

UNTERSUCHUNGEN ZUR ENDOGENEN  
MIKROBIELLEN KONTAMINATION  
VON MELONEN (*CUCUMIS MELO*)

von Irene Esteban Cuesta

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

UNTERSUCHUNGEN ZUR ENDOGENEN  
MIKROBIELLEN KONTAMINATION  
VON MELONEN (*CUCUMIS MELO*)

von Irene Esteban Cuesta

aus Zaragoza

München 2016

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Lehrstuhl für Lebensmittelsicherheit

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Manfred Gareis

Mitbetreuung durch: Dr. Nathalie Drees und Dr. Christoph Gottschalk

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

**Berichterstatter:** Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Manfred Gareis

**Korreferent:** Priv.-Doz. Dr. Christina Hölzel

**Tag der Promotion:** 16. Juli 2016



*Meinen Eltern, meiner Schwester und Pablo,  
die immer zur Seite stehen*

## Abkürzungsverzeichnis

1/2FRASER	FRASER-Listeria-Selektiv-Anreicherungsbouillon (halbkonzentriert)
A	Autoklav
ACN	Acetonitril
ae	Aerob
ALOA	Listeria-Agar nach Ottaviani und Agosti
an	Anaerob
Aqua dest.	Destilliertes Wasser
ASU	Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BIOHAZ	Biological Hazards
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BLUT	Columbia Agar mit Schafblut
c	Anzahl der erlaubten Proben mit Wert zwischen „m“ und „M“; das Ergebnis gilt als akzeptabel, wenn die Werte der übrigen Proben höchstens den Wert „m“ erreichen
<i>C. perfringens</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CEN	Europäisches Komitee für Normung
CHCA	$\alpha$ -Cyano-4-Hydroxymethylsäure
Ct	Cycle threshold
d	Tage
DE	Deutschland
DGHM	Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie
DIN	Deutsches Institut für Normung
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP's	Desoxynucleosidtriphosphate
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ESBL	Extended Spectrum $\beta$ -Lactamase
ESBL-Agar	Brilliance Extended Spectrum $\beta$ -Lactamase Agar
EFSA	European Food Safety Agency

EG	Europäische Gemeinschaft
EN	Europäische Norm
EU	Europäische Union
FAM	6-FAM-phosphoramidit
FRASER	FRASER-Listeria-Selektiv-Anreicherungsbouillon
g	Gramm
<i>g</i>	Erdbeschleunigung
Ga	Galia-Melone
GAP	Good Agrar Practices
GGN	Global GAP Number
Glucose-Agar	Glucose-Caseinpepton Agar
Gram+	Grampositive Bakterien
Gram-	Gramnegative Bakterien
h	Stunden
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Point
HE	Hektoen-Enteric Agar
HEX	Hexachloro-6-carboxy-fluorescein
ISO	International Organization of Standardization
k. A.	keine Angabe
KbE	Koloniebildende Einheit
L	Liter
L.	Linné
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
lauf. US	Laufende Untersuchung
m	Schwellenwert; das Ergebnis gilt als ausreichend, wenn die Proben diesen Wert nicht übersteigen
M	Höchstwert; das Ergebnis gilt als nicht ausreichend, wenn die Werte einer oder mehrerer Proben den Wert überschreiten
Mac+	MacConkey Nr. 3 plus Cefotaxim
MALDI-TOF MS	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry
MEA+	Malz-Extrakt Agar plus Novobiocin
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid

MH	Müller-Hinton Agar
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
min	Minuten
Mio.	Millionen
mL	Milliliter
MYP	Mannitol-Egg-Yolk-Polymixin Agar
n	Anzahl der Proben
N/A	Not applicable
NaCl	Natriumchlorid
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NI	Nicht identifiziert
Oxford	Oxford-Listeria-Selektiv Agar
p	Signifikanzniveau
P	Pepton aus Fleisch
PBS	Phosphatebuffered saline
PC	Plate Count Agar
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PGPR	Plant Growth-Promoting Rhizobacteria
PW	gepuffertes Peptonwasser
qPCR	Real-Time PCR
RKI	Robert-Koch Institut
RV	Salmonella Anreicherungsbouillon nach RAPPAPORT und VASSILIADIS
s	Sekunden
SKo	Sterilitäts-Kontrolle
STEC	Shigatoxin-bildende <i>Escherichia coli</i>
stx	Shigatoxin-Gen
t	Tonne
TBE	Tris-borate-EDTA
TBX	Chromocult® Tryptone Bile Xylose Agar
TFA	Trifluoroessigsäure
Tris-HCl	Tris hydrochloride
TSB+	Tryptic-Soy-Broth plus Cefotaxim

TSC	Tryptose-Sulfite-Cycloserine Agar
UK	Vereinigtes Königreich von Großbritannien
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
USDA	United States Department of Agriculture
UV	Ultraviolett
V	Volt
VNC	Viable but non culturable/ lebensfähig aber nicht kultivierbar
VO	Verordnung
VP	Voges Proskauer-Test
VRBG	Kristallviolet-Neutralrot-Galle-Glucose Agar
VRö	Verdünnungsflüssigkeit-Röhrchen
XLD	Xylose-Lysin-Desoxycholat Agar
YGC	Yeast-Glucose-Chloramphenicol Agar

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2 Literatur</b>	<b>2</b>
<b>2.1 Melonensorten</b>	<b>2</b>
<b>2.2 Marktsituation</b>	<b>4</b>
<b>2.3 Lebensmittelassoziierte Ausbrüche</b>	<b>6</b>
<b>2.4 Anbaumethoden und assoziierte mikrobielle Risikofaktoren</b>	<b>10</b>
2.4.1 Produktionssysteme	10
2.4.2 Bewässerungssysteme und Wasserquellen	11
2.4.3 Düngung	11
2.4.4 Ernte und Vertrieb	12
<b>2.5 Mikrobiologische Kriterien</b>	<b>12</b>
<b>2.6 ESBL-bildende <i>Enterobacteriaceae</i> in pflanzlichen Lebensmitteln</b>	<b>15</b>
<b>2.7 Endogenes mikrobielles Vorkommen in Pflanzen und deren Produkten</b>	<b>16</b>
2.7.1 Kontaminationswege	17
2.7.2 Verbreitung innerhalb der Pflanze	19
<b>3 Material und Methoden</b>	<b>21</b>
<b>3.1 Anzahl und Herkunft der untersuchten Proben</b>	<b>21</b>
<b>3.2 Probenahme</b>	<b>22</b>
<b>3.3 Bestimmung des Reifegrads</b>	<b>24</b>
<b>3.4 Mikrobiologische Untersuchung</b>	<b>26</b>
<b>3.5 PCR</b>	<b>35</b>
3.5.1 Materialien	35
3.5.2 DNA Extraktion	35
3.5.3 Amplifikation	35
3.5.4 Auswertung	36
<b>3.6 MALDI-TOF MS</b>	<b>37</b>
3.6.1 Geräteausstattung	37
3.6.2 Probenpräparation	37

3.6.3 Probenmessung .....	38
3.6.4 Identifizierung mittels MALDI-Biotyper .....	39
<b>3.7 Sequenzierung .....</b>	<b>39</b>
3.7.1 DNA-Extraktion .....	39
3.7.2 PCR .....	40
3.7.3 Gel-Elektrophorese .....	41
3.7.4 DNA-Aufreinigung .....	42
3.7.5 Sequenzierung .....	43
<b>3.8 Charakterisierung nicht identifizierter Mikroorganismen .....</b>	<b>43</b>
<b>3.9 Statistische Auswertung .....</b>	<b>43</b>
<b>4 Ergebnisse .....</b>	<b>44</b>
<b>4.1 Äußere Schale .....</b>	<b>44</b>
4.1.1 Mikrobiologischer Status .....	44
4.1.2 Ausgewählte lebensmittelassoziierte Krankheitserreger .....	48
4.1.3 ESBL-bildende <i>Enterobacteriaceae</i> .....	52
<b>4.2 Fruchtfleisch .....</b>	<b>54</b>
4.2.1 Mikrobiologischer Status .....	54
4.2.2 Identifizierung der Mikroorganismen .....	58
<b>4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse .....</b>	<b>70</b>
<b>5 Diskussion .....</b>	<b>75</b>
<b>5.1 Mikrobiologischer Status .....</b>	<b>75</b>
<b>5.2 Untersuchung auf potentiell pathogene Mikroorganismen .....</b>	<b>79</b>
<b>5.3 ESBL-bildende <i>Enterobacteriaceae</i> .....</b>	<b>82</b>
<b>5.4 Mikroorganismen im Fruchtfleisch .....</b>	<b>83</b>
<b>5.5 Mögliche Ursachen einer endogenen Kontamination .....</b>	<b>85</b>
<b>5.6 Bedeutung für die Lebensmittelsicherheit .....</b>	<b>87</b>
<b>6 Zusammenfassung .....</b>	<b>90</b>
<b>7 Summary .....</b>	<b>91</b>

<b>8 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>92</b>
<b>9 Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>105</b>
<b>10 Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>107</b>
<b>11 Anhang .....</b>	<b>110</b>
<b>12 Danksagung .....</b>	<b>156</b>



## 1 Einleitung

Lebensmittel können mit verschiedenen Infektions- und Intoxikationserregern kontaminiert sein und zu lebensmittelbedingten Ausbrüchen führen. Auch pflanzliche Lebensmittel, wie beispielsweise Melonen, wurden in den letzten Jahren vermehrt mit solchen Ausbrüchen in Zusammenhang gebracht. Die Übertragung von pathogenen Bakterien durch diese Produkte kann sich als besonders bedeutsam erweisen, insbesondere wenn sie roh verzehrt werden ohne dass eine wirksame hygienische Gegenmaßnahme zur Erregerabtötung stattfindet.

So wurden durch den Verzehr von Melonen ausgelöste Krankheitsausbrüche unter anderem durch *Salmonella* spp. und *Listeria monocytogenes* verursacht. Aus diesem Grund haben sowohl die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA), als auch das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) Melonen als Risikoprodukte für die Übertragung von pathogenen und potentiell pathogenen Erregern bezeichnet. Bisher wurde nicht untersucht, ob die Krankheitserreger sich dabei lediglich auf der Oberfläche oder auch im Inneren der pflanzliche Produkte befunden haben.

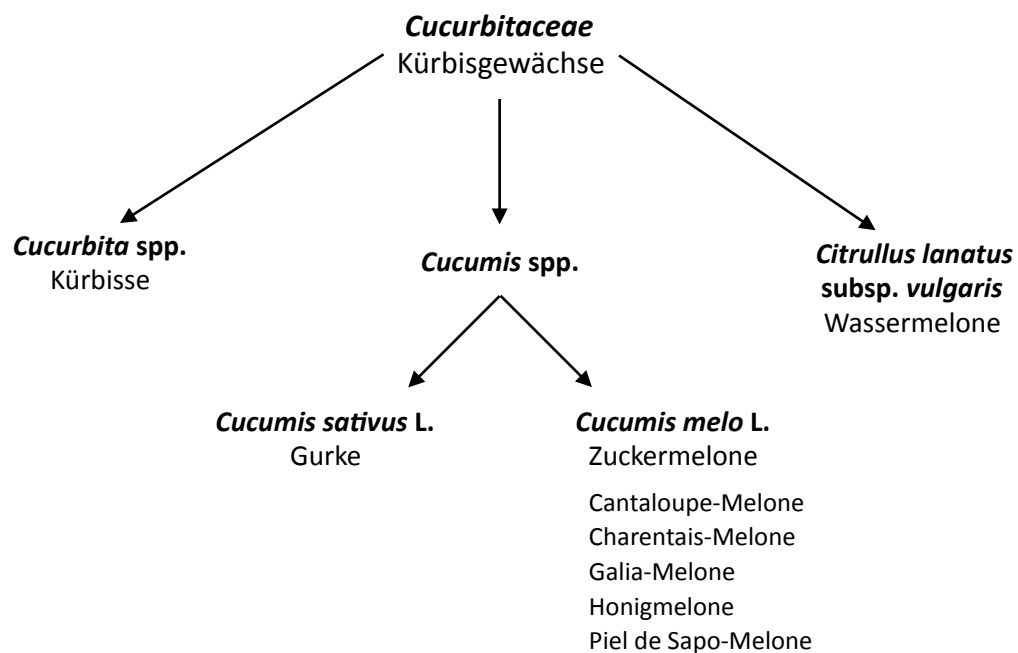
Ziel dieser Arbeit war insbesondere die Überprüfung einer endogenen mikrobiellen Kontamination des Fruchtfleisches von Zuckermelonen im Vergleich zur Untersuchung der Kontamination der Schale. Zusätzlich wurde das Vorkommen von wichtigen humanpathogenen Mikroorganismen auf der Schale sowie im Fruchtfleisch gezielt untersucht. Für diese Untersuchung wurden Cantaloupe- und Galia-Melonen ausgewählt. Diese gehören einerseits zu den starkzehrenden Früchten, die einen erhöhten Nährstoffbedarf haben und andererseits vereinfacht ihre netzartige Schale eine Anhaftung von Mikroorganismen auf der Oberfläche.

Insgesamt wurden 147 Melonen aus den zwei wichtigsten Anbauregionen „Mittelmeer“ und „Südamerika“ im Zeitraum eines Jahres mikrobiologisch und molekularbiologisch untersucht und Zusammenhänge zwischen der Höhe und Häufigkeit der mikrobiellen Belastung und den Kriterien Herkunft, Melonensorten und Reifegrad ausgewertet.

## 2 Literatur

### 2.1 Melonensorten

Melonen gehören aus botanischer Sicht zum Gemüse. Sie werden u. a. mit Gurken (*Cucumis sativus* Linné (L.)) und Kürbissen (*Cucurbita* spp.) zur Familie der Kürbisgewächse (*Cucurbitaceae*) gezählt (Abb. 1)(McCreight und Staub, 1999). Bei den im Handel befindlichen Melonen wird zwischen Zuckermelonen (*Cucumis melo* L.) und Wassermelonen (*Citrullus lanatus* subsp. *vulgaris*) unterschieden (Chomicki und Renner, 2015). Die weitere taxonomische Einteilung von Melonen Sortenvarietäten ist insgesamt kontrovers und ändert sich aufgrund genetischer Untersuchungen ständig (Stepansky et al., 1999; Nunez-Palenius et al., 2008).



**Abbildung 1:** Einteilung von *Cucumis melo* innerhalb der Familie *Cucurbitaceae* (nach McCreight und Staub, 1999 und Chomicki und Renner, 2015)

Wassermelonen zeichnen sich durch eine dicke Schale, einen hohen Wasseranteil und eine gelbliche oder rosa bis rote Farbe des mit Samen durchsetzten Fruchtfleisches aus. Zuckermelonen haben im Vergleich einen leicht geringeren Wasseranteil und unterschiedliche Fruchtfleischfarben von weiß über gelb oder grün bis orange. Während bei Wassermelonen die Kerne im gesamten Fruchtfleisch verteilt sind, befinden sich die Kerne bei Zuckermelonen in einem Hohlraum in der Mitte der Früchte (Lück, 2004). Die

Zuckermelonen können entweder eine netzartige oder eine glatte Oberfläche haben. Zu den glattschaligen Melonen gehören dabei die Honigmelone mit gelber Schale und weißem Fruchtfleisch sowie die Piel de Sapo-Melone mit grüner Schale und weißem Fruchtfleisch. Die Cantaloupe-Melonen mit grüner Schale und orangem Fruchtfleisch, sowie die Galia-Melonen mit gelb-grüner Schale und grünem Fruchtfleisch gehören zu den netzartigen Melonen (Lück, 2004; Cantliffe et al., 2009).

Im Gegensatz zu den glattschaligen Melonen gehören die netzschaligen Melonen zu den klimakterischen Früchten, die nach der Ernte nachreifen. Das Konservierungspotenzial dieser Sorten ist daher geringer als das der glatten Sorten, so dass diese entweder früher geerntet oder schnell verkauft werden müssen (Jeong et al., 2007; Laínez und Krarup, 2008; Nunez-Palenijs et al., 2008; Pech et al., 2008).

Die Melonensorte Cantaloupe zeichnet sich durch einen höheren Anteil an Saccharose im Vergleich zu den Zuckern Fruktose und Glukose aus. Bei der Honigmelone sind die Glukose-, Fruktose- und Saccharose-Anteile ähnlich, während Wassermelonen einen höheren Anteil an Fruktose aufweisen (Tab. 1) (USDA, 2016).

**Tabelle 1:** Durchschnittliche Nährwerte von Cantaloupe-, Honig- und Wassermelonen pro 100 g Fruchtfleisch (nach USDA, 2016)

Nährwert	Cantaloupe-Melone	Honigmelone	Wassermelone
Energie [Kcal]	34	36	30
Wasser [%]	90,2	89,8	91,5
Kohlenhydrate [g]	8,8	9,1	7,6
Zucker [g]	7,8	8,1	6,2
• Saccharose [g]	4,4	2,5	1,2
• Fruktose [g]	1,5	2,7	3,4
• Glukose [g]	1,9	2,9	1,6
Ballaststoffe [g]	0,9	0,8	0,4
Fett [g]	0,2	0,1	0,2

## 2.2 Marktsituation

Die in Europa am häufigsten verkauften Zuckermelonensorten sind Galia-, Charentais-, Cantaloupe-, Piel de Sapo- und Honigmelonen. Deutschland (18,4 %) ist nach Frankreich (20,1 %) der zweitgrößte Importeur für Melonen in Europa (DE: 427.893 t in 2014) (EFSA, 2014b; AMI, 2015).

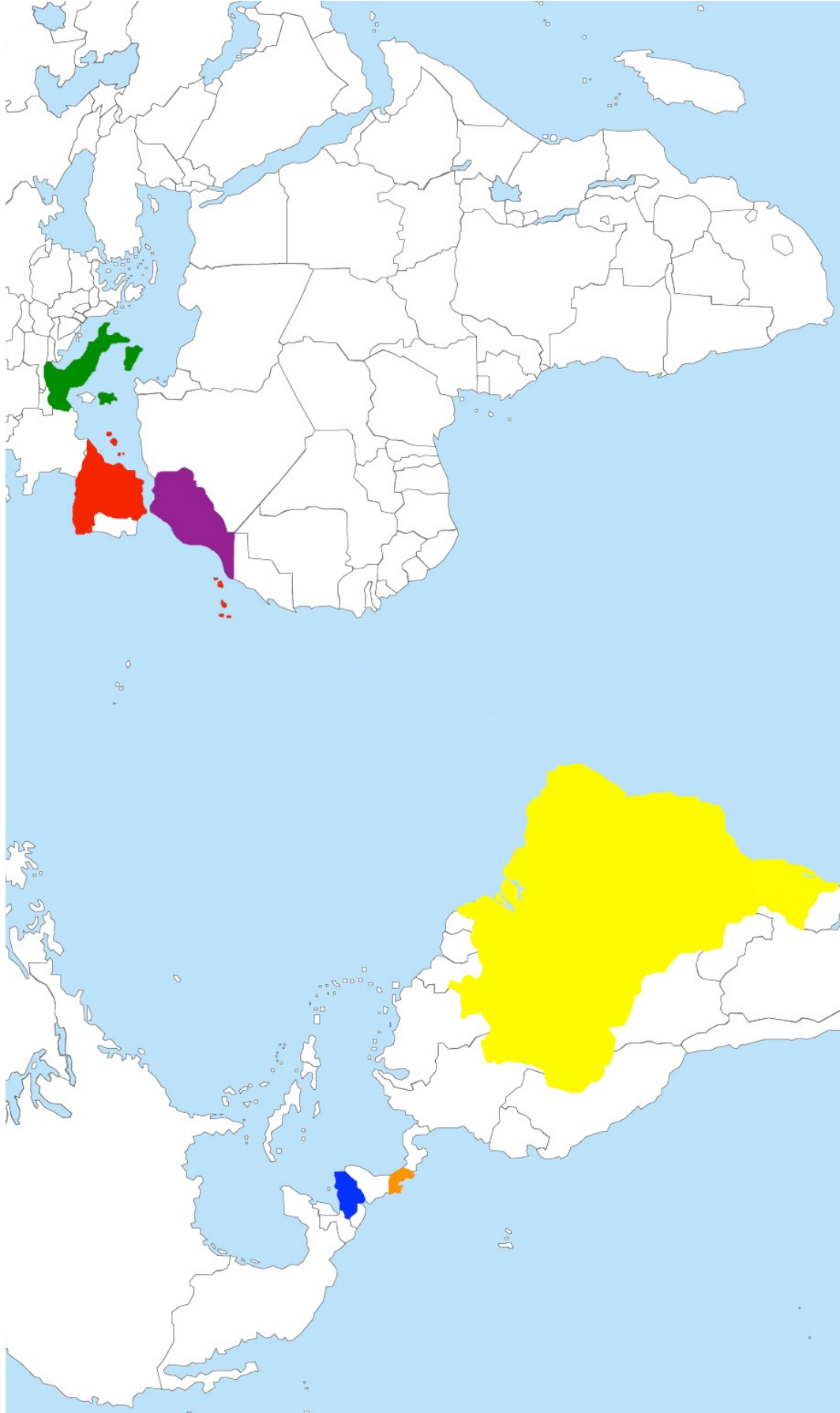
Im Jahr 2011 wurden in Europa 2,29 Mio. t Melonen konsumiert. Davon stammten in abnehmender Reihenfolge 83,0 % aus EU-Ländern wie Spanien, Italien, Frankreich, Griechenland und Rumänien. Im Jahr 2011 wurden 14,8 % aus außereuropäischen Ländern importiert. Brasilien, Costa Rica, Marokko und Honduras zählen in abnehmender Reihenfolge zu den wichtigsten außereuropäischen Anbauländern (EFSA, 2014b; AMI, 2015).

Diese für den Melonenimport in Europa relevanten Anbauländer lassen sich in zwei große Regionen unterteilen: zum Einen die Mittelmeer-Region und zum Anderen die südamerikanische Region. Zur Mittelmeer-Region zählen unter anderem Spanien, Italien und Marokko, während zur südamerikanischen Region Brasilien, Honduras und Costa Rica gerechnet werden (Abb. 2) (EFSA, 2014b; AMI, 2015).

Innerhalb der Mittelmeer-Region war Spanien mit 38,0 % der Produktion (871.996 t in 2011) das Hauptanbaugebiet in Europa, gefolgt von Italien mit 23,4 % (536.229 t in 2011). Der Melonenimport aus Marokko machte 2,3 % (51.728 t in 2011) der gesamten Melonen-Einfuhr nach Europa aus (EFSA, 2014b).

Unter den südamerikanischen Ländern stand Brasilien mit 6,9 % Exportanteil (157.484 t in 2011) an der Spitze, gefolgt von Costa Rica mit 2,8 % (65.214 t in 2011) und Honduras mit 1,5 % (34.379 t in 2011)(EFSA, 2014b).

**Abbildung 2:** Hauptanbauländer der nach Europa importierten Melonen mit Angabe des Anteils am Gesamtimport (nach EFSA, 2014b; [www.weltkarte.com](http://www.weltkarte.com))



## 2.3 Lebensmittelassoziierte Ausbrüche

Lebensmittelassoziierte Krankheitsausbrüche können sowohl durch Lebensmittel tierischen Ursprungs als auch durch pflanzliche Lebensmittel verursacht werden. In den Jahren 2007 bis 2011 konnte ein Zusammenhang mit pflanzlichen Produkten bei 10 % aller lebensmittelbedingten Ausbrüche in Europa ermittelt werden, sowie bei 26 % der Erkrankungsfälle, 35 % der Krankenhausaufenthalte und 46 % der Todesfälle, wobei hier eine steigende Tendenz zu beobachten war (EFSA, 2013). Insbesondere Blattgemüse, Sprossen, Tomaten, Gurken, Zuckrerbsen sowie verschiedene Melonensorten wurden dabei mit lebensmittelbedingten Ausbrüchen assoziiert (Tab. 2).

So wurde beispielsweise im Mai 2011 ein großer lebensmittelbedingter Ausbruch im Zusammenhang mit Shigatoxin-bildenden *Escherichia (E.) coli* (STEC) des Serotyps O104:H4 kontaminierten Sprossen in Deutschland und im Juni 2011 auch in Frankreich gemeldet (Buchholz et al., 2011). Insgesamt waren 3842 Personen betroffen, von denen 855 Menschen die Folgekomplikation des hämolytisch-urämischen Syndroms (HUS) und 2987 eine akute Gastroenteritis entwickelten. Es verstarben 53 Personen an den folgenden Infektionen, davon 35 HUS-Patienten und 18 Patienten mit Gastroenteritis. Bockshornkleesamen aus Ägypten, die in Deutschland angezüchtet und verkauft wurden, gelten als wahrscheinlichstes assoziiertes Lebensmittel. Aufgrund der Nachweisschwierigkeiten des Erregers aus den Samenproben wurde nicht nur eine Oberflächenkontamination, sondern auch eine interne Kontamination der Samen als möglich erachtet (Aurass et al., 2011; BfR, 2011; Buchholz et al., 2011).

Bei einem kürzlich in den Vereinigten Staaten von Amerika (USA) registrierten lebensmittelbedingten *Salmonella*-Ausbruch galten Gurken aus Kalifornien als der wahrscheinlichste Vektor (CDC, 2015). Die erste Meldung dieses Ausbruchs fand im September 2015 statt, obwohl erste Erkrankungen bereits im Juli 2013 aufgetreten waren. Bisher waren 39 Staaten betroffen mit insgesamt 888 Infektionen und 6 Todesfällen. Unter den Patienten waren 49 % der betroffenen Personen unter 18 Jahre. Nach einer vollständigen Genomsequenzierung wurde *Salmonella* Poona als Ursache des Ausbruchs bestätigt. Die Kontaminationsquelle der Gurken konnte bis dato nicht ermittelt werden (CDC, 2015).

**Tabelle 2: Lebensmittelassoziierte Krankheitsausbrüche in Europa, den USA und Kanada im Zusammenhang mit pflanzlichen Produkten**

Jahr	Mikroorganismus	Assoziierte Lebensmittel	Ursprungsland	Erkrankungsfälle (Todesfälle)	Ausbruchsland	Quelle
1998	<i>Salmonella</i> Baildon	Tomaten	k. A.	86 (3)	USA, 7 Staaten	CDC FOOD Tool, 2016
1999	<i>Salmonella</i> Muenchen	Alfalfasprossen	k. A.	157 (0)	USA, 6 Staaten	CDC FOOD Tool, 2016
2003	<i>Salmonella</i> Chester	Alfalfasprossen	k. A.	26 (1)	USA, 2 Staaten	CDC FOOD Tool, 2016
2006	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Tomaten	k. A.	192 (0)	USA, 22 Staaten	CDC, 2006
2007	<i>Salmonella</i> Java	Baby-Spinat*	k. A.	222 (0)	Schweden, Finnland, Norwegen, Holland, Dänemark, UK	Denny et al., 2007
2007	<i>Salmonella</i> Newport	Tomaten	k. A.	10 (1)	USA, New York	CDC FOOD Tool, 2016
2008	<i>Salmonella</i> Napoli	Roher Rucola Salat	Italien	13 (2)	Schweden	SVA, 2008
2008	<i>Staphylococcus aureus</i>	Bohnensprossen	k. A.	42 (k. A.)	Dänemark	EFSA, 2013
2010	<i>Salmonella</i> Paratyphi B var. Java	Gemischte Blattsalate	k. A.	130 (16)	UK	EFSA, 2013 Gobin et al., 2011
2010	<i>Bacillus cereus</i>	Lollo-Salat	k. A.	2 (0)	Finnland	EFSA, 2013
2011	STEC 0104:H4	Samen von Bockshornkleesamen	Ägypten	3842 (53)	Deutschland, Frankreich	Aurass et al., 2011 BfR, 2011 Buchholz et al., 2011
2011	<i>Salmonella</i> Strathcona	Tomaten (Datterino)	Italien	43 (0)	Dänemark	Staten Serum Institut, 2011
2011	STEC 027:H30	Zuckererbsen	k. A.	87 (0)	Dänemark	EFSA, 2013
2014	<i>Listeria monocytogenes</i>	Mungosprossen	k. A.	5 (2)	USA, 2 Staaten	CDC FOOD Tool, 2016
2015	<i>Salmonella</i> Poona	Gurke	Kalifornien, USA (lauf. US)	888 (6)	USA, 39 Staaten	CDC, 2015

k. A.: keine Angabe // \* wahrscheinlich, aber nicht bestätigt // lauf. US: laufende Untersuchung

Ausbrüche im Zusammenhang mit dem Verzehr von Melonen haben gehäuft in den USA stattgefunden (Tab. 3). Insbesondere *Salmonella* spp. waren Ursache vieler Ausbrüche. Bereits im Jahr 1954 wurde ein Ausbruch durch mit *Salmonella* Miami kontaminierte Wassermelonen gemeldet, die 17 Enteritis-Fälle und einen Todesfall verursacht haben (FDA, 2015). In den Jahren 1990 und 1991 ereigneten sich zwei große Cantaloupe-assoziierte Ausbrüche im Zusammenhang mit *Salmonella* Chester und *Salmonella* Poona mit mehr als 245 Patienten und zwei Todesfällen 1990 und 400 Fällen 1991 (CDC, 1991; FDA, 2015). *Salmonella* Poona auf Cantaloupe-Melonen war ebenfalls Ursache für drei weitere Ausbrüche in den Jahren 2000, 2001 und 2002. Insgesamt erkrankten 155 Personen, von denen zwei starben. Alle drei Ausbrüche wurden mit Cantaloupe-Melonen aus Mexiko in Zusammenhang gebracht. Während der Untersuchungen konnten mehrere mögliche Kontaminationsquellen ausgemacht werden, die mit mangelnden hygienischen Maßnahmen sowohl vor der Ernte, als auch in der Verarbeitungsphase einhergehen. Hierzu zählen zum Beispiel kontaminiertes Wasser, schlechte Personalhygiene der Mitarbeiter, Schädlinge in den Verpackungen und eine schlechte Wartung der Ausrüstung (CDC, 2002).

Im Jahr 2011 verursachte *Salmonella* Newport erstmals einen lebensmittelbedingten Ausbruch im Zusammenhang mit bereits geschälten und geschnittenen Wassermelonen in Europa (Tab. 3). In der Zeit von Oktober 2011 bis Januar 2012 gab es 63 Erkrankungsfälle bei Menschen aus Großbritannien, Irland und Deutschland mit Krankenhausaufenthalten, wobei 23,8 % der Betroffenen Kinder unter sechs Jahren waren (Pryor et al., 2014).

Auch *Listeria* (*L.*) *monocytogenes* in den USA wurde mit Melonen assoziiert (Tab. 3). In der Zeit von Juli bis Oktober 2011 infizierten sich in 28 Staaten 147 Personen, von denen 33 verstarben (22 %). Bei diesem Ausbruch waren 36 % der erkrankten Menschen 60 Jahre alt oder älter. Zusätzlich waren vier schwangere Frauen und drei Neugeborene betroffen. Zudem wurden eine Fehlgeburt registriert. Cantaloupe-Melonen aus Colorado, USA wurden hierbei als assoziiertes Lebensmittel bestätigt. Hygienemängel erschienen als wahrscheinlichster Grund für die Kontamination der Melonen (McCollum et al., 2013).

Die Konsequenzen und Ausmaße von lebensmittelbedingten Ausbrüchen hängen maßgeblich von den verursachenden Erregern ab. So können *Salmonella* spp. oder STEC, wie *E. coli* O157:H7, Ausbrüche mit hoher Morbidität verursachen. Im Vergleich dazu gehen Erkrankungsfälle mit *L. monocytogenes* mit einer potentiell höheren Letalität einher (Tab. 3).



**Tabelle 3: Melonen-assoziierte Krankheitsausbrüche in Europa, den USA und Kanada**

Jahr	Mikroorganismus	Assoziierte Melonensorte	Ursprungsland	Erkrankungsfälle (Todesfälle)	Ausbruchsland	Quelle
1954	<i>Salmonella</i> Miami	Wassermelone	Florida, USA	17 (1)	USA, Massachusetts	FDA, 2015
1990	<i>Salmonella</i> Chester	Cantaloupe*	Mexiko	> 245 (2)	USA, 30 Staaten	FDA, 2015 CDC, 1991
1991	<i>Salmonella</i> Poona	Cantaloupe*	Texas, USA	400 (0)	USA, 23 Staaten und Kanada, 4 Provinzen	CDC, 1991 Foodborne Illness Outbreak Database, 2016
1993	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Cantaloupe*	k. A.	9 (0)	USA, Oregon	FDA, 2015
2000	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Wassermelone	k. A.	736 (1)	USA, Wisconsin	CDC FOOD Tool, 2016 FSIS, 2000
2000-2002	<i>Salmonella</i> Poona	Cantaloupe*	Mexiko	155 (2)	USA, 12 Staaten und Kanada, 4 Provinzen	CDC, 2002
2003	<i>Salmonella</i> Newport	Honigmelone	k. A.	68 (2)	USA, 13 Staaten	OSDH, 2003
2003	<i>Salmonella</i> Muenchen	Cantaloupe Honigmelone	k. A.	58 (0)	USA, 3 Staaten	Foodborne Illness Outbreak Database, 2016
2008	<i>Salmonella</i> Javiana	Wassermelone	k. A.	594 (0)	USA, Kalifornien	Foodborne Illness Outbreak Database, 2016
2008	<i>Salmonella</i> Litchfield	Cantaloupe*	Honduras	51 (0)	USA, 16 Staaten	CDC, 2008
2011	<i>Listeria monocytogenes</i>	Cantaloupe	Colorado, USA	147 (33)	USA, 28 Staaten	McCollum et al., 2013
2011	<i>Salmonella</i> Panama	Cantaloupe	Guatemala	20 (0)	USA, 10 Staaten	CDC, 2011b
2011	<i>Salmonella</i> Newport	Wassermelone	Brasilien	63 (0)	UK, Irland, Deutschland	Byrne et al., 2014
2012	<i>Salmonella</i> Typhimurium u. Newport	Cantaloupe	Massachusetts, USA	261 (3)	USA, 24 Staaten	CDC, 2012

\* Wahrscheinlich, aber nicht bestätigt // k. A.: keine Angabe

## 2.4 Anbaumethoden und assoziierte mikrobielle Risikofaktoren

Aus Sicht der Lebensmittelhygiene und -sicherheit wird der mikrobiologische Status von Melonen durch verschiedene Faktoren beeinflusst, wie zum Beispiel den Produktionsmethoden während des Anbaus, der Umgebung inklusive der klimatischen Bedingungen oder dem Boden. Die Vielfältigkeit dieser Faktoren kann unerwartete Folgen haben, die ein potentielles Risiko für die Lebensmittelsicherheit darstellen können (EFSA, 2014a).

### 2.4.1 Produktionssysteme

Melonen werden hauptsächlich durch direktes Säen gepflanzt. Es wird empfohlen, sie auf erhöhten Hügeln bei Bodentemperaturen von mehr als +15 °C und mit einem schwarzen Plastik-Mulch bedeckt anzupflanzen (EFSA, 2014b).

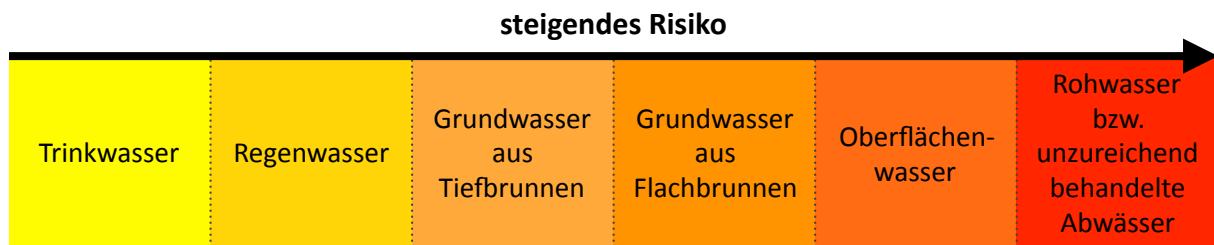
Die verwendeten Produktionssysteme beim Melonenanbau sind entweder Freiland-Anbau oder Gewächshaus-Produktion (Vorsaison). Melonen werden zu 75 % im Freiland angebaut (EFSA, 2014b). Dieses System wird in Europa meistens zusammen mit Plastik-Mulch eingesetzt, der mehrere Vorteile, wie frühere Ernte oder verbessertes Insekten- und Unkraut-Management, bietet (Kemble, 1996). Jedoch fördert Plastik-Mulch auf Grund seiner Struktur eine bessere Übertragung von pathogenen Mikroorganismen, wie *Salmonella* spp. Alternativ kann organischer Mulch verwendet werden, der ein niedriges Risiko für die Verbreitung potentiell pathogener Mikroorganismen zeigt (Cevallos-Cevallos et al., 2012).

Ein Nachteil des Freilandanbaus ist die Möglichkeit von Oberflächen-Kontaminationen der Melonen durch spritzendes Regenwasser oder Wasseransammlungen nach heftigen Regenfällen (Lopez-Velasco et al., 2012; EFSA, 2014b). Auch der mögliche Kontakt mit Haus- und Wildtieren, sowie mit Vögeln und deren Exkrementen stellt ein hohes Risiko für die Kontamination mit Mikroorganismen dar (EFSA, 2014b). Nematoden, wie *Caenorhabditis elegans* könnten auch als Vektoren von Bakterien, wie *Salmonella* Poona, an der Oberfläche von Cantaloupe-Melonen wirken (Caldwell et al., 2003).

## 2.4.2 Bewässerungssysteme und Wasserquellen

Die Bewässerung während des Anbaus von Melonen gilt als die höchstwahrscheinlichste Kontaminationsquelle mit Mikroorganismen (Gagliardi et al., 2003; Castillo et al., 2004). Die Nutzung von Wasser guter mikrobiologischer Qualität ist daher von hoher Bedeutung auf jedem Schritt des Anbaus (EFSA, 2014b).

Für die Bewässerung von Melonen können folgende Bewässerungsquellen mit steigendem mikrobiologischem Kontaminationsrisiko angewandt werden (Abb. 3): Trinkwasser, Regenwasser, Grundwasser aus Tiefbrunnen, Grundwasser aus Flachbrunnen, Oberflächenwasser und Rohwasser bzw. unzureichend behandelte Abwässer (Leifert et al., 2008). Die meistbenutzte Wasserquelle in Europa ist das Oberflächenwasser (EFSA, 2014b).



**Abbildung 3:** Mikrobiologisches Risiko unterschiedlicher Wasserquellen in aufsteigender Reihenfolge (nach Leifert et al., 2008)

In der Regel wird zur Bewässerung das so genannte Tröpfchensystem genutzt, bei dem es sich um eine leistungsfähige Methode zur Wasserversorgung handelt, ohne das Blattwerk zu durchnässen, was zu verschiedenen Pflanzenkrankheiten führen könnte (Pilgrim und Petersen, 2011).

## 2.4.3 Düngung

Melonen haben wegen ihrer Eigenschaft als Starkzehrer einen höheren Nährstoffbedarf als andere Pflanzen und brauchen somit eine größere Menge Dünger (LZE, 2016). Beim Anbau von Melonen werden sowohl chemische als auch organische Dünger sowie aufbereiteter Weideviehdung und Kompost verwendet. Es kann ebenfalls eine Bewässerungsdüngung erfolgen, bei der das Gießwasser an sich gedüngt wird. Im Fall eines bakteriell kontaminierten Düngers könnte auch das Risiko einer Kontamination der Melonen erhöht werden, da kontaminierter Erdboden die Übertragung von Keimen auf die Schale ermöglicht (EFSA, 2014b). Kontaminiertes Düngemittel ist bereits bei Melonen-assoziierten *Salmonella*-Ausbrüchen als Risikofaktor identifiziert worden (Bowen et al., 2006).

#### 2.4.4 Ernte und Vertrieb

Bei der Ernte von klimakterischen Melonensorten sollte die Reifephase der Früchte mitberücksichtigt werden, da sie nach dem Pflücken nachreifen. Bei Melonen ist die Pflückreife erreicht, wenn eine nahezu komplette Ablösung des Fruchtstiels von der Pflanze stattfand. Dieser Zustand wird als „full slip“ bezeichnet (EFSA, 2014b).

Während der Ernte sollten die Melonen vor Beschädigungen und auch übermäßiger Sonneneinstrahlung geschützt werden, da Schäden während der Ernte und der Verarbeitung die mikrobiologische Qualität und das Aussehen des Produktes beeinträchtigen können (Mossler et al., 2013). Die Ernte wird normalerweise durch eine drei bis fünf Personen-Kette per Hand durchgeführt (EFSA, 2014b).

Nach der Ernte sollten Melonen laut den „Good Agrar Practices“ (GAP)-Richtlinien schnell gekühlt werden, um die Qualität der Früchte zu sichern (Kemble, 1996). Die optimale Kühltemperatur richtet sich nach den jeweiligen Kultursorten. Während Cantaloupe-Melonen Temperaturen bis zu +2-5 °C ertragen, können Honigmelonen nur bei Temperaturen zwischen +10 und +14 °C gelagert werden (EFSA, 2014b).

Eine fehlende Temperaturkontrolle und die Kontamination durch Transportgeräte nach der Ernte gelten ebenfalls als hygienische Risikofaktoren (US-FDA, 2011; CDC, 2011a; EFSA, 2014b). Dies gilt insbesondere für die Kontamination bzw. Kreuzkontamination der Produkte während der Verarbeitung durch Erntearbeiter, Mitarbeiter oder Ausrüstung (EFSA, 2014b).

#### 2.5 Mikrobiologische Kriterien

In der Europäischen Gemeinschaft wurden durch die Verordnung (EG) Nr. 178/2002 die allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts festgelegt. Weiterhin sind durch die Verordnung (EG) Nr. 853/2004 die Mindesthygieneanforderungen und verpflichtenden Eigenkontrollen vorgegeben. Die Eigenkontrollen werden durch die Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 nach Lebensmittelsicherheits- und Prozesshygienekriterien unterschieden. Bei vorgeschnittenem Obst und Gemüse und nicht pasteurisierten Obst- und Gemüse-Säften sind mikrobiologische Lebensmittelsicherheits-Kriterien für *Salmonella* spp. einzuhalten ( $n = 5$ ;  $c = 0$ ;  $m/M =$  nicht nachweisbar in 25 g). Für verzehrsfertige Lebensmittel sind Lebensmittelsicherheits-Kriterien für *L. monocytogenes* vorgegeben ( $n = 5$ ;  $c = 0$ ;  $m = M = 100$  KbE/g) (EFSA, 2014b; VO (EG) Nr. 2073/2005). Zur Überprüfung der Effektivität von Hygienemanagementstrategien werden routinemäßig Indikator-Mikroorganismen wie

*Enterobacteriaceae* untersucht. Die Möglichkeit einer Nutzung dieser Indikatoren für Zuckermelonen und Wassermelonen wurde durch die EFSA empfohlen. *Escherichia coli* wird als Prozesshygienekriterium entsprechend der Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 für die Überprüfung der Hygiene während des Herstellungsprozesses ( $n = 5$ ;  $c = 2$ ;  $m = 100 \text{ KbE/g}$ ;  $M = 1000 \text{ KbE/g}$ ) sowohl für vorgeschnittenes Obst und Gemüse als auch für nicht pasteurisierte Obst- und Gemüse-Säfte genutzt (EFSA, 2007; EFSA, 2014b; VO (EG) Nr. 2073/2005). Informationen zur Rückverfolgbarkeit innerhalb der Lebensmittelkette gibt der GGN (Global GAP Number). Somit können die Produkte bis zum Erzeuger verfolgt und hygienische sowie Qualitätsmanagement-Probleme effektiv gelöst werden (GLOBALG.A.P., 2016).

Melonen sind Lebensmittel pflanzlichen Ursprungs, die zum Verzehr in rohem oder minimal verarbeiteten Zustand bestimmt sind. Um als sicheres Lebensmittel in den Verkehr gebracht zu werden, sollten diese Produkte weder gesundheitsschädliche Substanzen, wie Toxine, giftige Chemikalien oder pathogene Mikroorganismen, enthalten (EFSA, 2014b), noch durch Verderb oder unhygienische Verarbeitung für den menschlichen Verzehr ungeeignet sein. Die Hygiene beim Umgang mit diesen pflanzlichen Produkten ist daher besonders entscheidend, da sie in der Regel keinen haltbarmachenden Prozessen, wie Erhitzen, Räuchern oder Trocknen, unterzogen werden.

Sowohl der pH-Wert, der bei Cantaloupes zwischen 6,13 und 6,58 liegt (US-FDA, 2007), als auch der Wasseranteil von 90 % fördern mikrobielles Wachstum. Auch die netzartige Oberfläche der Melonenschale erleichtert Mikroorganismen das Anheften und Überleben, so dass eine Keimreduzierung durch Waschen und Desinfizieren erschwert wird (EFSA, 2014b).

Besonders die Verarbeitung zu ready-to-eat Produkten erhöht das Risiko von mikrobiellen Kontaminationen nach der Ernte der Früchte. Die Melonen, die zu ready-to-eat Produkten verarbeitet werden, werden im Allgemeinen vor der Verarbeitung in einem Wassertank gewaschen. Um eine Kreuzkontamination zu vermeiden und vorhandene Keime zu reduzieren, wird manchmal Chlor als Desinfektionsmittel zugesetzt. In diesem Schritt ist eine thermische Behandlung mittels warmen Wassers nicht vorgesehen (US-FDA, 2001). Allerdings kann durch das Waschen keine vollständige Desinfektion der Oberfläche erfolgen, wenn schon pathogene Mikroorganismen vorliegen (Parnell et al., 2005). Zusätzlich können durch das Waschen die pathogenen Mikroorganismen, die bereits auf der Oberfläche vorhanden sind, von den kontaminierten Bereichen zu den nicht kontaminierten übertragen werden (EC, 2002). Außerdem wird vor einer Gefahr der Infiltration von Pathogenen in das

Fruchtfleisch gewarnt, wenn die Früchte zu lang in kontaminiertem Wasser quellen, so dass die Zeit der Behandlung möglichst reduziert werden sollte (US-FDA, 2005). Auch während des Abschneidens von Melonen kann die Kontamination der Schale oder der verwendeten Geräte auf das Fruchtfleisch übertragen werden (Ukuku und Fett, 2002).

Für Deutschland können weitere Kriterien für betriebliche Eigenkontrollen des mikrobiologischen Status den Empfehlungen der Richt- und Warnwerte der Deutschen Gesellschaft für Mikrobiologie (DGHM) entnommen werden. Die VO (EG) Nr. 2073/2005 etabliert mikrobiologische Kontrolle von verarbeitetem Obst lediglich für *E. coli*, *Salmonella* spp. und *L. monocytogenes* (Tab. 4). Im Jahr 2014 hatten Obst und Gemüse im Rahmen der amtlichen Überwachung eine Beanstandungsquote zwischen 8 und 9 % in Deutschland (BVL, 2015).

**Tabelle 4:** Mikrobiologische Richt- und Warnwerte für geschnittenes und abgepacktes Obst zum Ende des Mindesthaltbarkeitsdatums (nach DGHM, 2011; VO (EG) Nr. 2073/2005)

Parameter	Richtwert [KbE/g]	Warnwert [KbE/g]	ASU
Aerobe mesophile Keime	$5 \times 10^7$	- - -	L 00.00-33:2006-09
<i>Enterobacteriaceae</i>	$1 \times 10^4$	$1 \times 10^5$	L 00.00-133/2:2010-09
<i>Escherichia coli</i>	$1 \times 10^2$	$1 \times 10^3$	L 00.00-132/1:2010-09 L 00.00-132/2:2010-09
Hefen	$1 \times 10^5$	- - -	L 01.00-37:1991-12
Schimmelpilze	$1 \times 10^3$	- - -	L 01.00-37:1991-12
<i>Salmonella</i> spp.	- - -	Nicht nachweisbar in 25 g	L 00.00-20:2008-12
<i>Listeria monocytogenes</i>	- - -	$1 \times 10^2$	L 00.00-22:2006-09 L 00.00-32:2006-09
Koagulase-positive Staphylokokken	$1 \times 10^2$	$1 \times 10^3$	L 00.00-56:2004-12

ASU: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren // KbE: Kolonie bildende Einheiten

Das EFSA BIOHAZ Panel empfiehlt allgemeine Minderungsmaßnahmen für Blattgemüse, wie unter anderem mikrobiologische Kontrollen von Düngung und Wasser, Reinigungs- und Hygienemaßnahmen und Temperaturkontrollen, um eine Verbesserung der öffentlichen Gesundheit und ein niedriges Infektionsrisiko zu erreichen (EFSA, 2014a). Diese Maßnahmen könnten auch für die Zucker- und Wassermelonen-Produktion validiert werden (EFSA, 2014b).

## 2.6 Extended Spectrum $\beta$ -Lactamase (ESBL)-bildende *Enterobacteriaceae* in pflanzlichen Lebensmitteln

Ein weiterer Aspekt der Lebensmittelsicherheit ist die Übertragung von antibiotikaresistenten Mikroorganismen durch Lebensmittel. Dabei sind insbesondere Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamasen (ESBL)-bildende *Enterobacteriaceae* von Bedeutung. ESBL sind plasmid-kodierte Enzyme, die eine Resistenz gegen verschiedene  $\beta$ -Lactam-Antibiotika, wie Penicilline, Cephalosporine der zweiten, dritten und vierten Generation und Monobactame (Aztreonam) bewirken können, aber nicht gegen Cephamycine oder Carbapeneme. Der Wirkungsmechanismus kann durch  $\beta$ -Lactamase-Inhibitoren, wie Clavulansäure, inhibiert werden (Jacoby und Munoz-Price, 2005; Davies and Davies, 2010). Sie treten bei *Enterobacteriaceae* auf, die die resistenztragenden Plasmide horizontal und vertikal übertragen können (Davies und Davies, 2010).

Das vermehrte Auftreten von Antibiotikaresistenzen und insbesondere ESBL ist ein globales Problem (Davies und Davies, 2010; ECDC, 2012). Bei einer Probenahme von 4700 *Klebsiella pneumoniae*- und *E. coli*-Isolaten aus Patienten unterschiedlicher Krankenhäuser zählte Europa zu den Gebieten mit einem hohen Anteil von Bakterien mit ESBL-Phänotyp (Winokur et al., 2001).

ESBL-Bildner können über verschiedene Vektoren, wie Wasser, Düngung oder Lebensmittel, verbreitet werden (Machado et al., 2009; Heuer et al., 2011; Hartmann et al., 2012; Tacao et al., 2012; Kim et al., 2015). Das Vorkommen von antibiotikaresistenten Mikroorganismen auf frischem und minimal verarbeitetem Obst und Gemüse wurde von Reuland et al. (2014) und Kim et al. (2015) untersucht. Sie fanden ESBL-Bildner auf 6,0 bzw. 10,1 % der untersuchten frischen und ready-to-eat-Produkten. Die Untersuchungen von Hassan et al. (2011) zeigten bei der Untersuchung verschiedener Gemüsesorten, unter anderem Cantaloupe-Melonen, dass zwar 14,8 % der Isolate resistent gegenüber den untersuchten Antibiotika waren, jedoch nur 2,3 % der isolierten Mikroorganismen ESBL-Bildner waren (Hassan et al., 2011).

Die Kontamination von pflanzlichen Produkten mit resistenten Mikroorganismen kann sowohl vor der Ernte als auch in der Verarbeitungsphase durch eine Kreuzkontamination stattfinden (Davies und Davies, 2010). Die Kühlagerung dieser Produkte kann zu einer Reduzierung der Resistenz der untersuchten Mikroorganismen führen. McMahon et al. (2007) fanden heraus, dass unter Kühlung diese Mikroorganismen eine geringere Resistenz zeigen, jedoch nur transient gegen manche Antibiotika.

## 2.7 Endogenes mikrobielles Vorkommen in Pflanzen und deren Produkten

Das Vorkommen von nicht pathogenen Bakterien im Inneren von Pflanzen wurde erstmals von Perotti (1926) beschrieben. Seither wurden endophytisch auftretende Mikroorganismen in unterschiedlichen pflanzlichen Lebensmitteln nachgewiesen, wobei die endophytische Mikrobiota von der jeweiligen Pflanze abhängig ist (Tab. 5) (Hallmann et al., 1997).

**Tabelle 5:** Endophytisch vorkommende Mikroorganismen in Pflanzen und Früchten (nach Hallmann et al., 1997)

Endophyten	Pflanzliche Lebensmittel	Quelle
<i>Bacillus</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Flavobacterium</i> spp., <i>Xanthomonas</i> spp., <i>Agrobacterium</i> spp.	Kartoffeln	De Boer und Copeman, 1974
<i>Bacillus</i> spp., <i>Erwinia</i> spp., <i>Flavobacterium</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp.	Getreide, Pflanzenerzeugnisse und Holzgewächse	Mundt und Hinkle, 1976
<i>Erwinia</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Clavibacter</i> spp., <i>Xanthomonas</i> spp., <i>Agrobacterium</i> spp., <i>Burkholderia</i> spp., <i>Serratia</i> spp.	Baumwolle	Misaghi und Donndelinger, 1991 McInroy und Kloepper, 1995
<i>Bacillus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp., <i>Burkholderia</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp.	Mais	Hallmann et al., 1997
<i>Enterobacter</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Pantoea</i> spp., <i>Rhodococcus</i> spp.	Weinrebe	Hallmann et al., 1997
<i>Pseudomonas</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Agrobacterium</i> spp., <i>Chryseobacterium</i> spp., <i>Burkholderia</i> spp., <i>Arthrobacter</i> spp., <i>Stenotrophomonas</i> spp.	Gurke	Mahaffee und Kloepper, 1997
<i>Pseudomonas</i> spp., <i>Agrobacterium</i> spp., <i>Kocuria</i> spp., <i>Pantoea</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Microbacterium</i> spp., <i>Stenotrophomonas</i> spp., <i>Arthrobacter</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., <i>Clavibacter</i> spp., <i>Variovorax</i> spp.	Karotten	Surette et al., 2003
<i>Pseudomonas</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Lysobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp., <i>Paenibacillus</i> spp.	Kürbis	Fürnkranz et al., 2012
<i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Achromobacteriaceae</i> , <i>Micrococcaceae</i>	Tomaten	Müller, 2013 Samish et al., 1961
<i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Microbacterium</i> spp.	Zuckermelone	Müller, 2013
<i>Bacillus</i> spp., <i>Sphingomonas</i> spp., <i>Actinobacterium</i> spp., <i>Brevibacterium</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., <i>Paenibacillus</i> spp., <i>Xanthobacter</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Pantoea</i> spp.	<i>Cucurbitaceae</i>	Glassner et al., 2015
<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Tsukamurella</i> spp.	Zuckermelone	Glassner et al., 2015



### 2.7.1 Kontaminationswege

Endophytische Mikroorganismen können über verschiedene Wege in die Pflanze eindringen und diese kolonisieren (Tab. 6) (Hallmann et al., 1997). Die Eintrittspforten können dabei nicht nur von pflanzenassoziierten Mikroorganismen genutzt werden, sondern auch von humanpathogenen Erregern, die die Pflanzen und deren Produkte kontaminieren (Erickson, 2012).

**Tabelle 6:** Eintrittspforten zur Besiedelung von Mikroorganismen in verschiedenen Pflanzenstrukturen

Pflanzenstruktur	Eintrittspforte	Quelle
Wurzel	Aufnahme durch die Wurzeln	Klerks et al., 2007 Wright et al., 2013
Stängel und Blätter	Stomata, Beschädigung der Epidermis, Wurzeln	Cooley et al., 2003 Roy et al., 2013
Sprossen	Samen	Harman et al., 1983 Deering et al., 2011
Früchte	Stomata, Beschädigung der Epidermis (Pflanze und Frucht), Wurzeln, Blüten	Guo et al., 2002 Erickson et al., 2012

#### Beschädigung der Epidermis

Während des Anbaus und der Ernte der Melonen können geschädigtes Gewebe, Bruch und Wundgewebe eine Umgebung schaffen, die das Risiko einer inneren Kontamination erhöhen. So kann beispielsweise das Wachstum und die Migration von *Salmonella* Poona in das Fruchtfleisch bis zu einer Tiefe von 3-4 cm durch das Wachstum von Schimmelpilzen wie *Cladosporium cladosporioides* oder *Geotrichum candidum* begünstigt werden (Richards and Beuchat, 2005a,b). Auch Insekten können Beschädigungen verursachen, die die Besiedelung des Pflanzeninneren und der Früchte vereinfachen (Brandl, 2008).

#### Stomata

Um durch die unbeschädigte Oberfläche der Pflanzen einzudringen, können Mikroorganismen die natürlichen Pflanzenöffnungen wie die Stomata, die Hydathoden und die Trichomen (Blatthaare) nutzen (Erickson, 2012). Insbesondere die Stomata spielen eine wichtige Rolle für das Eindringen von Mikroorganismen (Cooley et al., 2003; Roy et al., 2013). Sie befinden sich in der Epidermis der oberirdischen Pflanzenanteile und dabei hauptsächlich

in den Blättern. Sie sind für den Gasaustausch und die Wassertranspiration zuständig (Hetherington und Woodward, 2003).

Die Internalisierung potentiell pathogener Erreger wurde u.a. durch Roy et al. (2013) und Cooley et al. (2003) bestätigt. Die Autoren kontaminierten die Blätter von *Arabidopsis thaliana* und *Latuca sativa* mit *E. coli* O157:H7 und *Salmonella enterica* und bewiesen das Eindringen dieser Bakterien durch die Stomata.

Die Stomata-Schließzellen sind einer der Hauptbestandteile der pflanzlichen Immunantwort. Gegen eine Kontamination mit unerwünschten Bakterien wird eine Immunreaktion ausgelöst, durch die die Stomata geschlossen werden (Melotto et al., 2008). Die Intensität dieser Immunantwort ist Erreger-abhängig. *Salmonella* Typhimurium zeigt die Fähigkeit, das pflanzliche Gewebe durch die Stomata zu besiedeln, ohne eine wirkungsvolle Immunantwort auszulösen (Kroupitski et al., 2013; Roy et al., 2013). *Escherichia coli* O157:H7 aktivierte dagegen den Verschluss der Stomata mit einer verlängerten Immunantwort. Zusätzlich wird die Stomataöffnung durch die relative Luftfeuchtigkeit und die Beleuchtung beeinflusst. Eine hohe relative Luftfeuchtigkeit und eine starke Beleuchtung fördern die Öffnung der Stomata (Melotto et al., 2006; Roy et al., 2013).

### Aufnahme durch die Wurzeln

Zusätzlich können die Mikroorganismen das Innere der Pflanze über die Wurzeln besiedeln. Im Bereich um die Wurzeln gibt es die Rhizosphäre, die reich an organischen Säuren, Zucker, Aminosäuren, Vitaminen und polymeren Kohlenstoffen ist und die sich als biologische Nische von anderen externen Habitaten durch einen hohen Gehalt an Nährstoffen unterscheidet (Whipps, 2001). Daher ist die Rhizosphäre mit vielen Bakterien besiedelt, die als Rhizobakterien zusammengefasst werden (Berg et al., 2005; Berg et al., 2013; Prashar et al., 2014).

Die Mikroorganismen der Rhizosphäre sind pflanzen- und bodenspezifische Keime, die bereits in der Triebphase vorhanden sind. Sie führen sowohl ökologische Funktionen als auch wichtige Interaktionen mit der Pflanze aus (Yang und Crowley, 2000; Klerks et al., 2007; Berg et al., 2013). Die Rhizobakterien schützen die Wurzeln vor einer Kontamination durch fremde Bakterien (Cooley et al., 2003; Berg et al., 2005) und zeigen einen unterschiedlich starken Antagonismus gegenüber bestimmten Mikroorganismen. Dadurch wird die Internalisierung mancher Erreger stärker gehemmt (Klerks et al., 2007). Der Anteil an Pflanzen mit

internalisierten Mikroorganismen war in autoklavierten Erdböden höher als in nicht autoklavierten oder gedüngten Erdböden, was diese antagonistische Wirkung der Rhizobakterien auf fremde Mikroorganismen bestätigen könnte. Das Eindringen in die Wurzelhärchen von *Pseudomonas atrosepticum* und *E. coli* (Sakai) wurde bewiesen (Wright et al., 2013).

### Samen und Blüten

Pflanzensamen können über mehrere Kontaminationswege, wie den Pollenschlauch, das Gefäßsystem, die dorsale Struktur der Schoten oder des Hilums des reifen Samens, besiedelt werden (Harman, 1983; Mabagala, 1997). Besonders Samen, die der Erzeugung von Sprossen dienen, können leicht kontaminiert werden, da sie lange eingeweicht werden und dabei ein großes Flüssigkeitsvolumen aufnehmen können. Die Kontamination der zum Quellen verwendeten Flüssigkeit mit pathogenen Erregern kann daraufhin zur Kontamination der Samen und schließlich auch der Sprossen führen (Deering et al., 2011). Cooley et al. (2003) konnten innerhalb ihres Versuchsaufbaus 50 % der kontaminierten Samen mittels Waschen, Ultraschall und Waschen mit Chlor nicht desinfizieren, woraufhin sie eine endogene Kontamination vermuteten.

Eine mikrobielle Kontamination der Blüten kann zum Wachstum von kontaminierten Früchten und somit zu belastetem Fruchtfleisch führen. Zheng et al. (2013) konnten nach einem Kontaminationsversuch, bei dem die Blüten von Tomatenpflanzen mit *Salmonella* spp. inokuliert wurden, in 39,4 % der gewachsenen Tomaten den Erreger erneut von der Schale und aus dem Fruchtfleisch isolieren.

### **2.7.2 Verbreitung innerhalb der Pflanze**

Endophyten und pathogene Mikroorganismen wie *Salmonella* spp. befinden sich vorwiegend in den Zellzwischenräumen und in den Gefäßsystemen der Pflanzen (Klerks et al., 2007). Durch die Leitgefäße kann eine Translokation von Bakterien innerhalb der Pflanze stattfinden. Somit können sich die Mikroorganismen verbreiten und als Lebensmittel verwendete Teile der Pflanze kontaminieren (Gyaneshwar et al., 2001; Pérombelon, 2002). Eine Translokation von *Salmonella* Typhimurium wurde von Zheng et al. (2013) nach der Applikation von kontaminiertem Dünger auf Tomatenpflanzen nachgewiesen. *Salmonella* Typhimurium konnte bis zu einer Höhe von 10 cm im Stiel und in 5,5 % der untersuchten Tomaten detektiert werden. Die Internalisierung von Mikroorganismen in Blattgemüse, wie *Salmonella*

*enterica* in Eisbergsalat oder *E. coli* O157:H7 in Spinat, wurde bereits festgestellt (Erickson, 2012). Auch Müller (2014) wies eine endogene Belastung von Tomaten und Zuckermelonen nach. Lopez-Velasco et al. (2012) konnten hingegen eine Aufnahme von *Salmonella* Typhimurium durch die Wurzeln in *Cucumis melo*-Früchte nach einer Bewässerung mit kontaminiertem Wasser nicht bestätigen.

Durch die Besiedelung des Mesophylls können internalisierte pathogene Mikroorganismen überleben und somit zu einem lebensmittelbedingten Ausbruch führen (Cooley et al., 2003; Barak und Schroeder, 2012). Eine Vermehrung der Bakterien im Pflanzeninneren nach der Internalisierung ist nicht bekannt, so dass sich die Anzahl der Keime mit dem Alter der Pflanze vermutlich verringert. Manche Keime überleben dabei länger (*Salmonella* Typhimurium) als andere (*E. coli* O157:H7) (Roy et al., 2013). Die Pathogenität und die Besiedelungskapazität der Mikroorganismen wird durch bestimmte Eigenschaften wie Wachstumsrate, Kapazität zum Wachstum in den Wurzel-Exsudaten, Zellaufschluss, Mobilitätsfaktoren und membrangebundene Pathogenität (Geisseln, Fimbrien und O-Antigen der Lipopolysaccharide) beeinflusst (Lugtenberg und Dekkers, 1999; Cooley et al., 2003; Iniguez et al., 2005; Berger et al., 2011; Kroupitski et al., 2013; Roy et al., 2013).

Untersuchungen dieser Mechanismen in Melonen wurden bis auf den Versuch von Lopez-Velasco et al. (2012) und die Charakterisierung von Endophyten (Glassner et al., 2015) nicht weiter untersucht.

### 3 Material und Methoden

Im Folgenden werden die Methoden und die wichtigsten dazu verwendeten Materialien beschrieben. Alle weiteren Nährmedien, Lösungen, Reagenzien, Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Geräte sind im Anhang in den Tabellen 37 bis 41 aufgeführt.

#### 3.1 Anzahl und Herkunft der untersuchten Proben

In dieser Studie wurden insgesamt 147 Zuckermelonen untersucht, davon 127 Cantaloupe Melonen und als Vergleichsstichprobe 20 Galia-Melonen aus dem internationalen Handel. Die Herkunft und Anzahl der Proben ist der Tabelle 7 zu entnehmen. Die Probenahme erfolgte in der Zeit von Oktober 2014 bis September 2015 aus dem Groß- und Einzelhandel im Landkreis München. Die Proben wurden bis zum Zeitpunkt der Untersuchung bei +10 °C gelagert.

**Tabelle 7:** Anzahl und Herkunft der untersuchten Proben ( $n = 147$ )

Region	Herkunft	Anzahl der untersuchten Cantaloupe-Melonen	Anzahl der untersuchten Galia-Melonen
Südamerika	Brasilien	32	4
	Honduras	20	5
	Costa Rica	12	-
Mittelmeer	Spanien	33	7
	Italien	20	4
	Marokko	10	-
<b>Gesamt</b>		127	20

Insgesamt stammten 73 Melonen aus der Region Südamerika und 74 aus der Mittelmeer-Region. Diese wurden jeweils zwischen Oktober bis Mai bzw. Mai bis September genommen. Eine detaillierte Aufstellung der Herkunft der Proben ist unter Angabe der zur Verfügung stehenden Informationen im Anhang in den Tabellen 42 und 43 zu finden. Die Galia-Melonen wurden eigenständig fortlaufend nummeriert und zusätzlich mit dem Kürzel „Ga“ von den Cantaloupe-Melonen unterschieden.

## 3.2 Probenahme

Vor Entnahme der Untersuchungsprobe wurde jeweils eine visuelle Untersuchung der Schale auf Beschädigungen sowie eine Gewichtskontrolle der Melonen vorgenommen.

### Äußere Schale

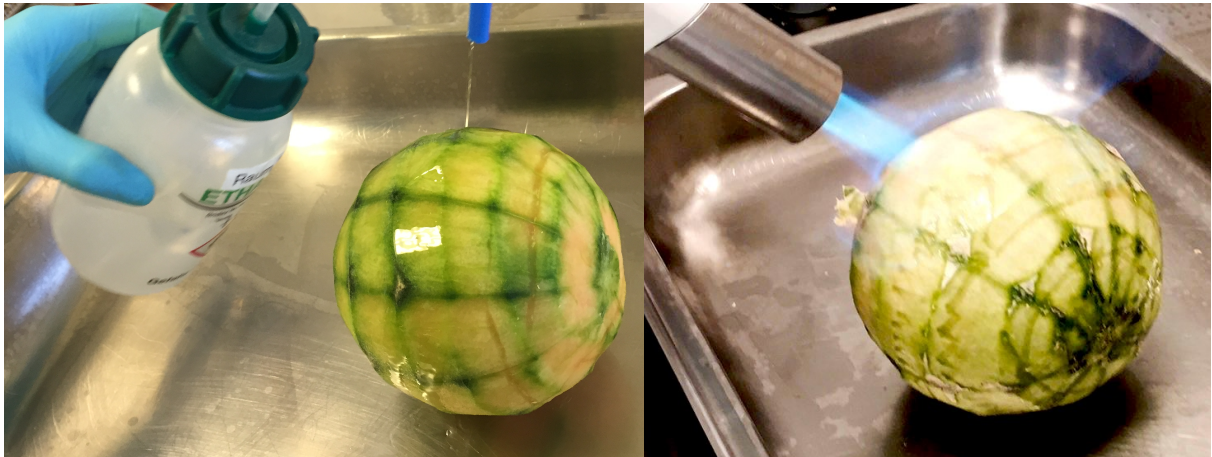
Für die Probenahme der Schale wurde die Melone mittels eines sterilen Edelstahl-Schälers vollständig geschält. Jeweils 10 g der Schale wurden in einem Stomacher-Beutel eingewogen und wie in Kapitel 3.3. beschrieben weiterbehandelt.

### Fruchtfleisch

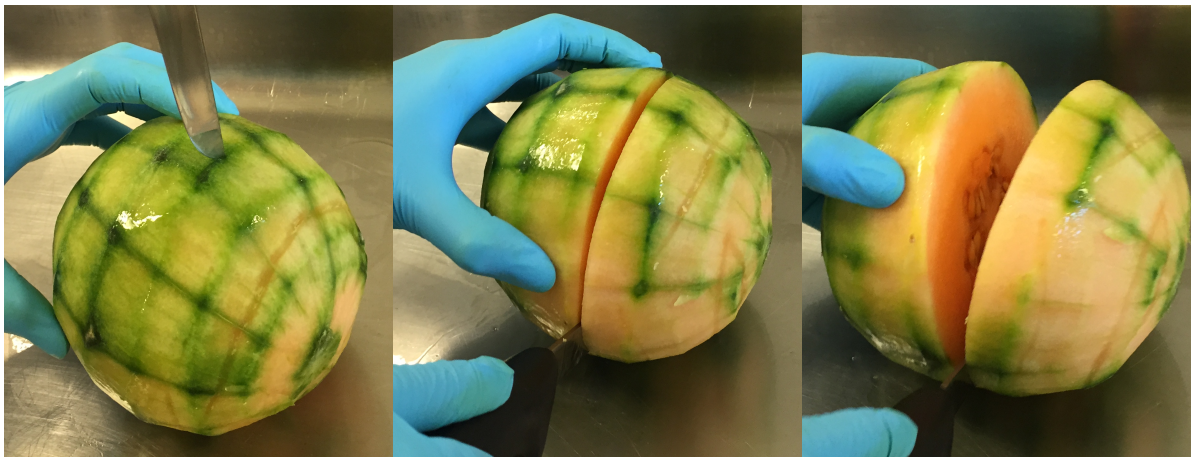
Um eine Kreuzkontamination des Fruchtfleisches durch die äußeren Schichten zu vermeiden, wurden die Melonen durch ein mehrstufiges Verfahren desinfiziert und anschließend geöffnet. Dazu wurde die Oberfläche der Melone mit 70 %igem Alkohol benetzt und unverzüglich abgeflammt (Abb. 4). Anschließend wurde die Melone unter sterilen Bedingungen in zwei Hälften geschnitten (Abb. 5). Die Oberfläche jeder Melonenhälfte wurde drei Mal je fünf Sekunden abgeflammt und anschließend für 30 min in einem Abstand von ca. 35 cm mit UV-Licht behandelt (Abb. 6).

Um eine Kreuzkontamination von der Schale auf die Anschnittfläche auszuschließen, wurde jeweils eine Sterilitäts-Kontrolle der behandelten Oberfläche durchgeführt. Dazu wurde eine dünne Schicht mit einem Skalpell von der Oberfläche geschnitten, in gepuffertes Peptonwasser überführt und auf Columbia Agar mit Schafblut (BLUT) ausplattiert.

Anschließend wurden unter sterilen Bedingungen die Kerne und das umliegende Gewebe entfernt und 10 g Fruchtfleisch von verschiedenen Stellen entnommen. Das Probenmaterial wurde wie im Kapitel 3.4 beschrieben weiter verarbeitet.



**Abbildung 4:** Benetzung der geschälten Oberfläche mit 70 %igem Alkohol und anschließendes Abflammen



**Abbildung 5:** Halbieren der geschälten Melonen nach thermischer Behandlung



**Abbildung 6:** Behandlung der Schnittfläche mit UV-Licht für 30 min

### 3.3 Bestimmung des Reifegrads

Der Reifegrad der untersuchten Melonen wurde beurteilt, um einen möglichen Einfluss auf die mikrobiologische Belastung der Melone zu überprüfen. Dazu wurden die Melonen subjektiv in verschiedene Grade (1 bis 3) eingestuft (Tab. 8). Die Beurteilung umfasste die Bewertung der Farbe, der Konsistenz und der Saftigkeit bzw. Trockenheit der Melonen. Die Farbe des Fruchtfleisches wurde visuell nach ihrer Intensität beurteilt. Während der Probenahme des Fruchtfleisches wurde die Konsistenz entsprechend der unten stehenden Tabelle 8 bewertet. Die Saftigkeit oder Trockenheit wurde subjektiv anhand der Konsistenz und des optischen Erscheinungsbildes bewertet (Abb. 7-9). Reifegrad 1 entspricht den unreifen Melonen, Reifegrad 2 den reifen Melonen und Reifegrad 3 den überreifen Melonen.

**Tabelle 8:** Einteilung des Reifegrads für die Beurteilung der Melonen

Reifegrad	Zustand	Beschreibung	Anzahl
1	unreif	Konsistenz: sehr hart bis hart, druckunempfindlich Saftigkeit/Trockenheit: sehr trockene bis trockene Oberfläche Farbintensität: hell orange/grün	40
2	reif/optimal	Konsistenz: Fruchtfleisch schnittfest, mit Druck leicht verformbar Saftigkeit/Trockenheit: kaum Flüssigkeitsaustritt Farbintensität: optimal orange/grün Komplettes Ablösen der Frucht vom Stiel („full slip“)	69
3	überreif	Konsistenz: weich bis sehr weich, mit Druck verformbar, Zerstörung des Fruchtfleisches bei der Probenahme, Fruchtfleisch fadenartig Saftigkeit/Trockenheit: starker Flüssigkeitsaustritt Farbintensität: dunkel orange/grün	38





**Abbildung 7:** Geöffnete Cantaloupe-Melone des Reifegrads 1 mit harter Konsistenz und Druckunempfindlichkeit, sehr trockener Schnittfläche und heller Farbintensität des Fruchtfleisches



**Abbildung 8:** Geöffnete Cantaloupe-Melone des Reifegrads 2 mit schnittfester Oberfläche, leichter Druckempfindlichkeit und optimaler orangener Färbung des Fruchtfleisches ohne Flüssigkeitsaustritt



**Abbildung 9:** Geöffnete Cantaloupe-Melone des Reifegrads 3 mit sehr weicher Konsistenz, Druckempfindlichkeit, Zerstörung des Fruchtfleisches mit Ausbildung einer fadenartigen Struktur, dunkler Farbveränderung und starkem Flüssigkeitsaustritt

### 3.4 Mikrobiologische Untersuchung

Für die mikrobiologischen Untersuchungen der Schale und des Fruchtfleisches wurden verschiedene Nährmedien und Inokulationsbedingungen verwendet. Eine schematische Darstellung des Untersuchungsablaufes zeigen die Abbildungen 10 bis 14. Die verwendeten Methoden entsprechen der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 des Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuches (LFGB) für die Untersuchung von Lebensmitteln (Tab. 10 und 11). Eine Methodenauflistung sowie einzelne Modifikationen sind im Anhang in Tabelle 44 aufgelistet.

Für die Erstverdünnung der Proben wurden 10 g in 90 mL gepuffertem Peptonwasser, FRASER-*Listeria*-Selektiv-Anreicherungsbouillon (halbkonzentriert) oder Tryptic Soy Broth plus Cefotaxim (1 mg/L) je nach Untersuchungsspektrum angesetzt. Die Untersuchungsansätze erfolgten mittels oberflächlichem Spatelverfahren, mit Ausnahme der Untersuchung auf mesophile sulfitreduzierende Clostridien, bei denen das Gussverfahren eingesetzt wurde. Für die Dezimalverdünnungen wurde jeweils 1 mL aus der 1:10 Erstverdünnung in 9 mL Röhrchen mit Verdünnungsflüssigkeit überführt, gemischt und entsprechend ausplattiert.

Nach Abschluss der Bebrütung wurden die Platten entsprechend der Angaben der DIN EN ISO 7218:2014 „Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen“ nach folgender Formel berechnet. Das Ergebnis wurde dabei als KbE/g angegeben.

$$n = \frac{\sum c}{(n_1 \times 1) + (n_2 \times 0,1)} \times \text{Verdünnungsfaktor} \times \text{Verdünnungsstufe}$$

$n$  = gewichteter Mittelwert der Koloniezahlen

$\sum c$  = Summe der Kolonien aller ausgezählten Petrischalen

$n_1$  = Anzahl der Petrischalen der niedrigsten auswertbaren Verdünnungsstufe

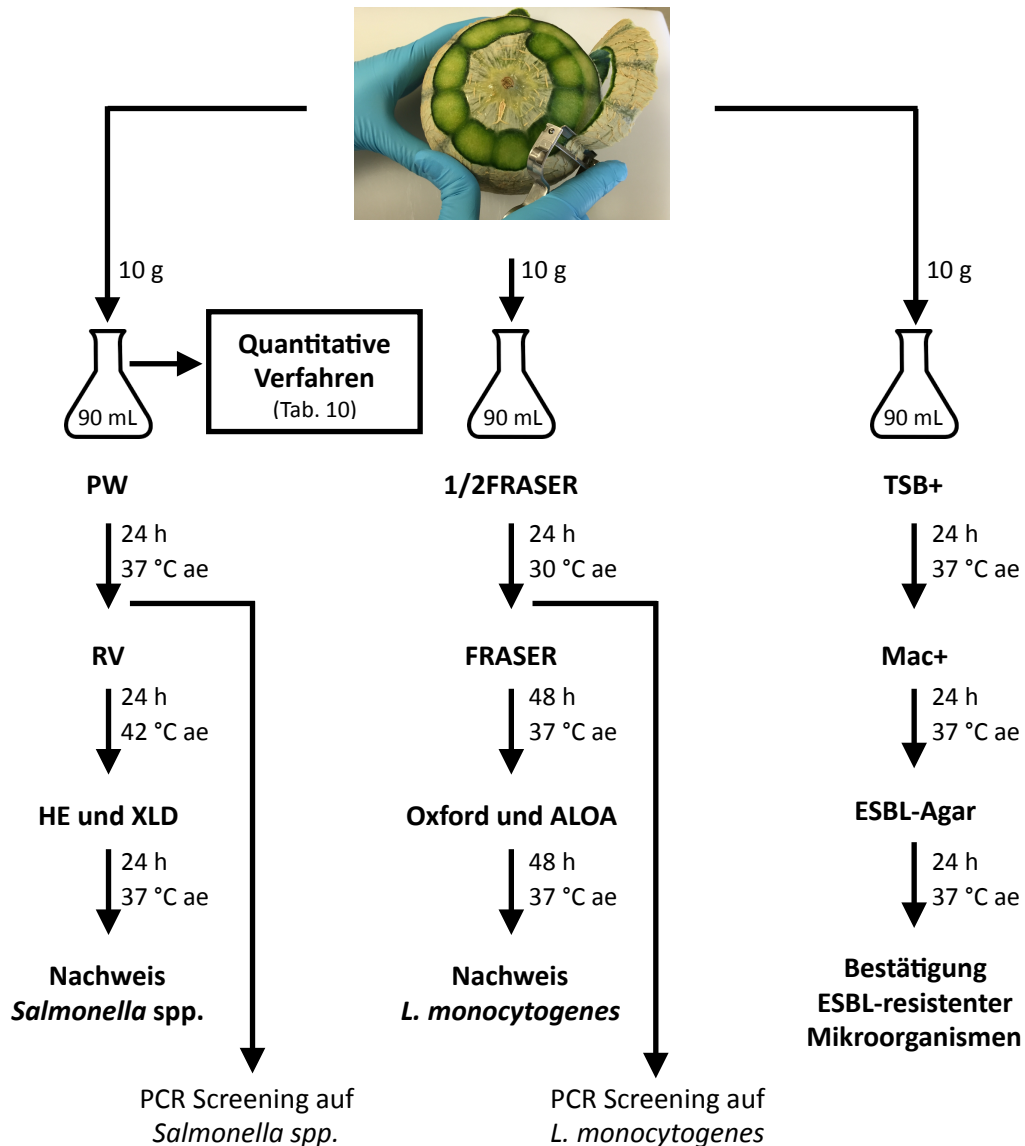
$n_2$  = Anzahl der Petrischalen der nächst höheren Verdünnungsstufe

Verdünnungsfaktor = entsprechend des aufgebrauchten Volumens (10 bei 0,1 mL)

Verdünnungsstufe = entsprechend der niedrigsten ausgezählten Verdünnung ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ...)

Für die Beurteilung der Ergebnisse wurden die Richt- und Warnwerte der DGHM und der VO (EG) Nr. 2073/2005 herangezogen (Tab. 4).

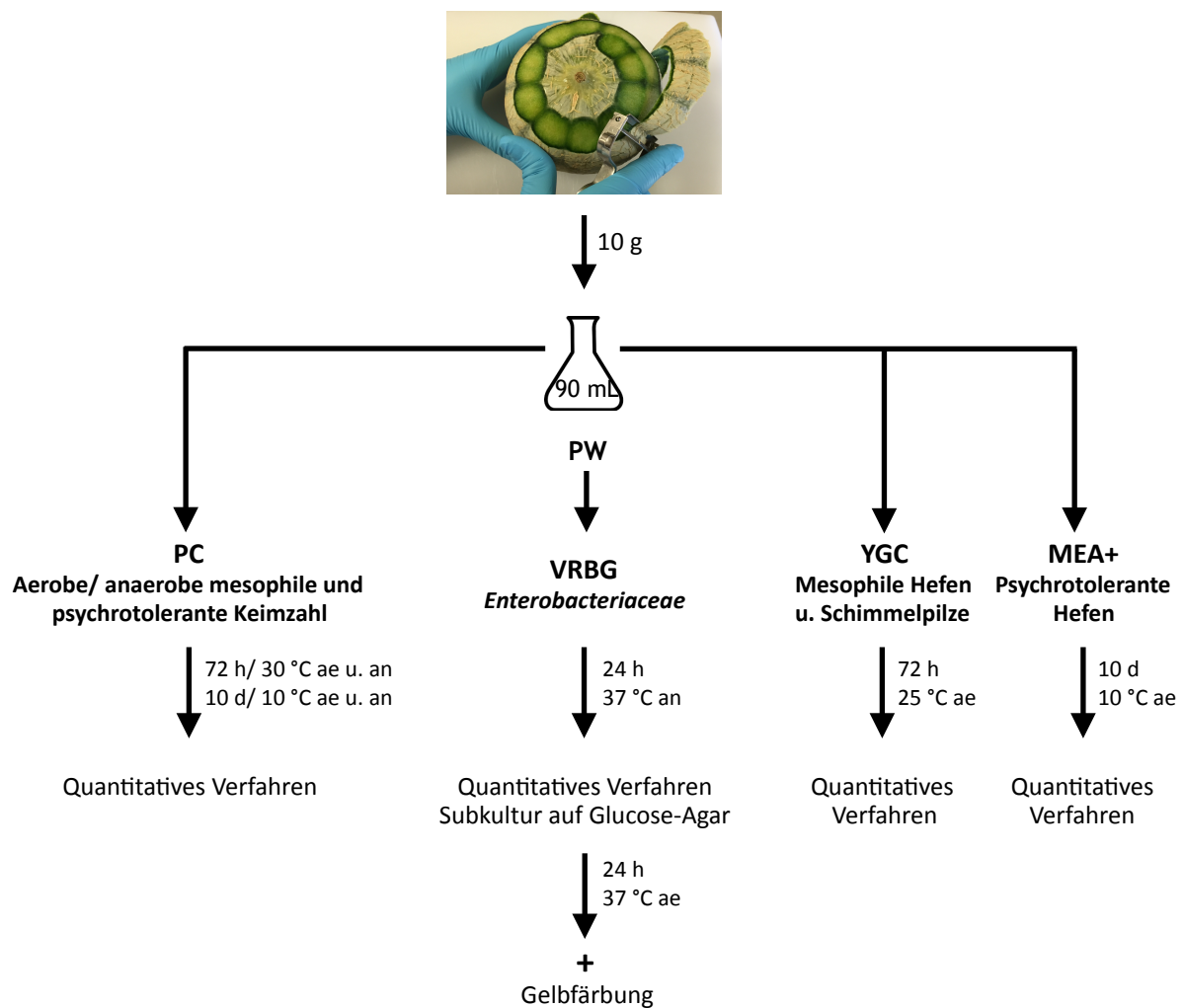
Die qualitativen Verfahren für die Untersuchung der Schale auf *Salmonella* spp. und *L. monocytogenes* sowie auf potentiell ESBL-bildende *Enterobacteriaceae* wurde mittels Bebrütung der Selektivanreicherungsbouillons für 24 h und folgende Ausplattierung durchgeführt. Die quantitativen Verfahren erfolgten durch direkte Spatelverfahren (Abb. 10).



1/2FRASER: FRASER-*Listeria*-Selektiv-Anreicherungsbouillon (halbkonzentriert); ae: aerob; ALOA: *Listeria*-Agar nach Ottaviani und Agosti; ESBL: Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase; ESBL-Agar: Brilliance™ Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase Agar; FRASER: FRASER-*Listeria*-Selektiv-Anreicherungsbouillon; HE: Hektoen-Enteric Agar; Mac+: MacConkey Nr. 3 plus Cefotaxim (1 mg/L); Oxford: Oxford-*Listeria*-Selektiv-Agar; PW: gepuffertes Peptonwasser; RV: *Salmonella* Anreicherungsbouillon nach RAPPAPORT und VASSILIADIS; TSB+: Tryptic-Soy-Broth plus Cefotaxim (1 mg/L); XLD: Xylose-Lysin-Desoxycholat Agar

**Abbildung 10:** Ablauf der Probenahme und der qualitativen mikrobiologischen Untersuchung der Schale mit Angabe der Zeiten, Temperaturen sowie der verwendeten Nährmedien

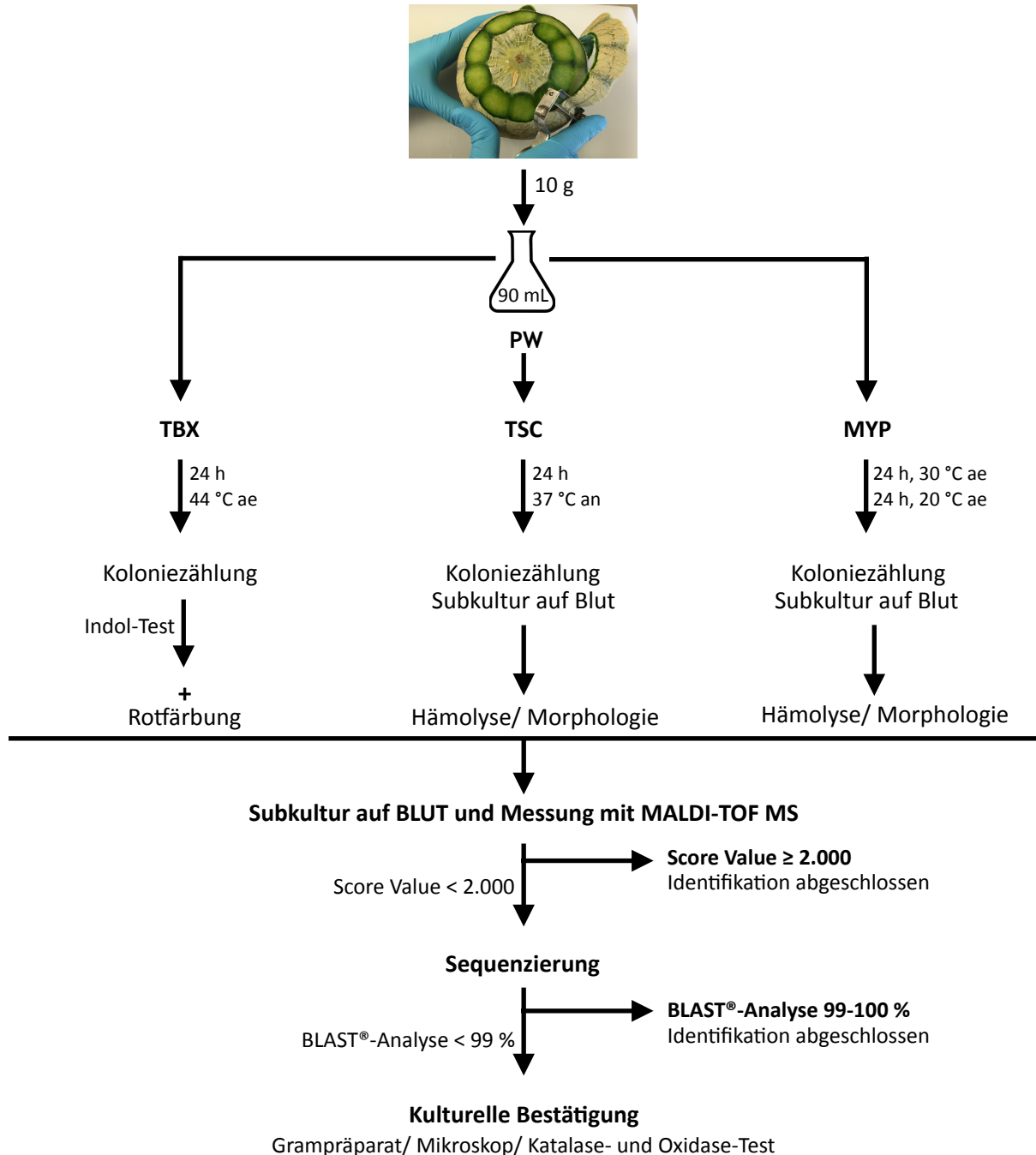
Der quantitative mikrobiologische Status der Schale wurde durch die Parameter aerobe und anaerobe mesophile Keimzahl, aerobe und anaerobe psychrotolerante Keimzahl, *Enterobacteriaceae*, mesophile Schimmelpilze sowie mesophile und psychrotolerante Hefen bestimmt. Zur Beimpfung der jeweiligen festen Nährmedien wurde aus der Erstverdünnung in gepuffertem Peptonwasser un den Stufen der Dezimalverdünnung eine Menge von 0,1 mL eingesetzt (Abb. 11).



+: Bestätigung; ae: aerob; an: anaerob; Glucose-Agar: Glucose-Caseinpepton Agar; MEA+: Malz-Extrakt-Agar plus Novobiocin; PC: Plate Count Agar; PW: gepuffertes Peptonwasser; VRBG: Kristallviolet-Neutralrot-Galle-Glucose Agar; YGC: Yeast-Glucose-Chloramphenicol Agar

**Abbildung 11:** Ablauf der quantitativen mikrobiologischen Untersuchung der Schale mit Angabe der Zeiten, Temperaturen sowie der verwendeten Nährmedien

Zusätzlich wurde die Schale auf *E. coli* (TBX), mesophile Clostridien (TSC) mit der Identifizierung lediglich von *Clostridium* (*C.*) *perfringens*-Verdächtigen und *Bacillus* (*B.*) *cereus* (MYP) untersucht (Abb. 12).

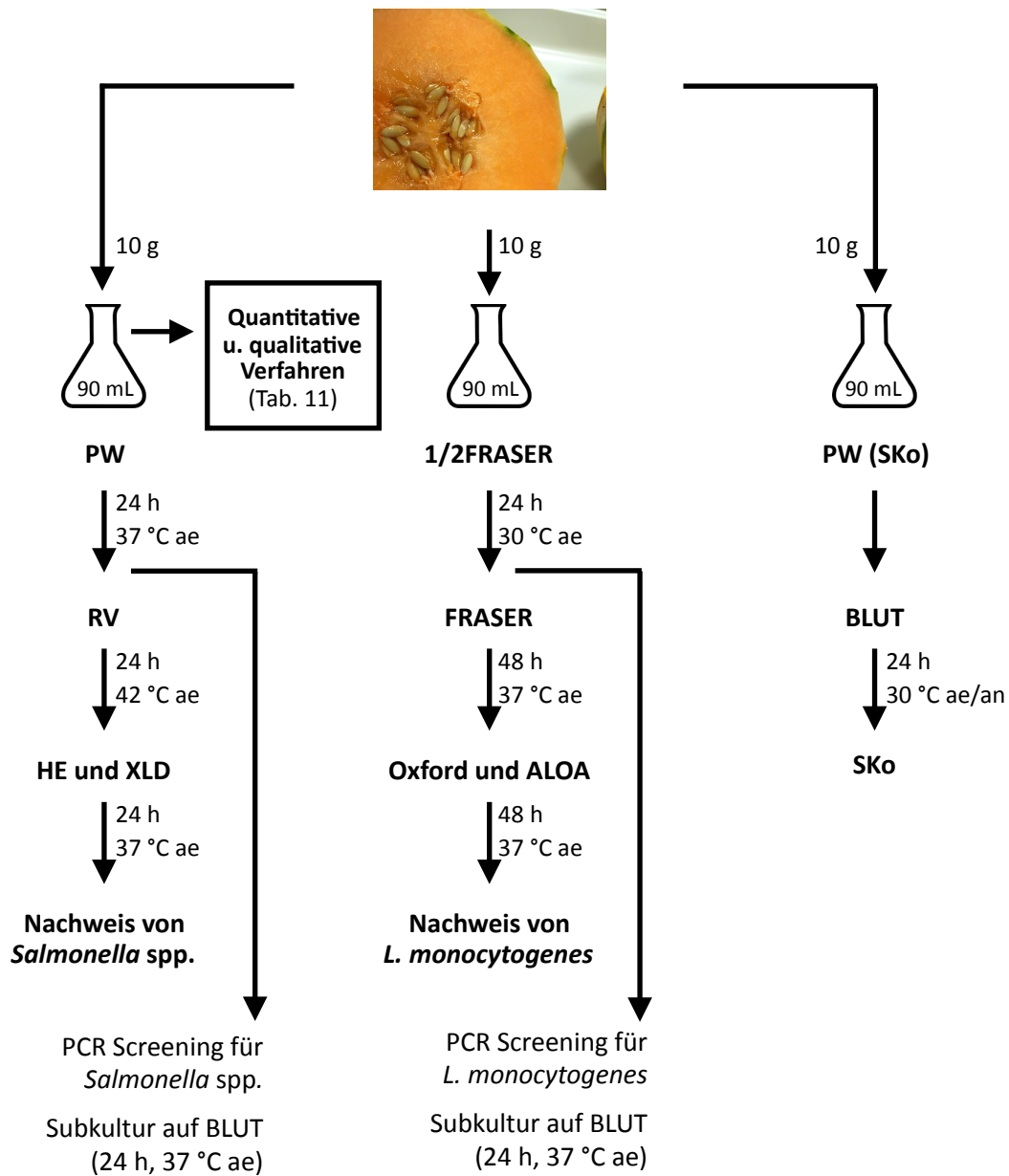


+: Bestätigung; ae: aerob; an: anaerob; BLAST: Basic Local Alignment Search Tool; BLUT: Columbia Agar mit Schafblut; MALDI-TOF MS: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry; MYP: Mannitol-Egg-Yolk-Polymixin Agar; PW: gepuffertes Peptonwasser; TBX: Chromocult® Tryptone-Bile-Xylose Agar; TSC: Tryptose-Sulfite-Cycloserine Agar

**Abbildung 12:** Ablauf der Untersuchung der Schale auf *E. coli*, *B. cereus* und mesophile Clostridien mit Angabe der Zeiten, Temperaturen sowie der verwendeten Nährmedien



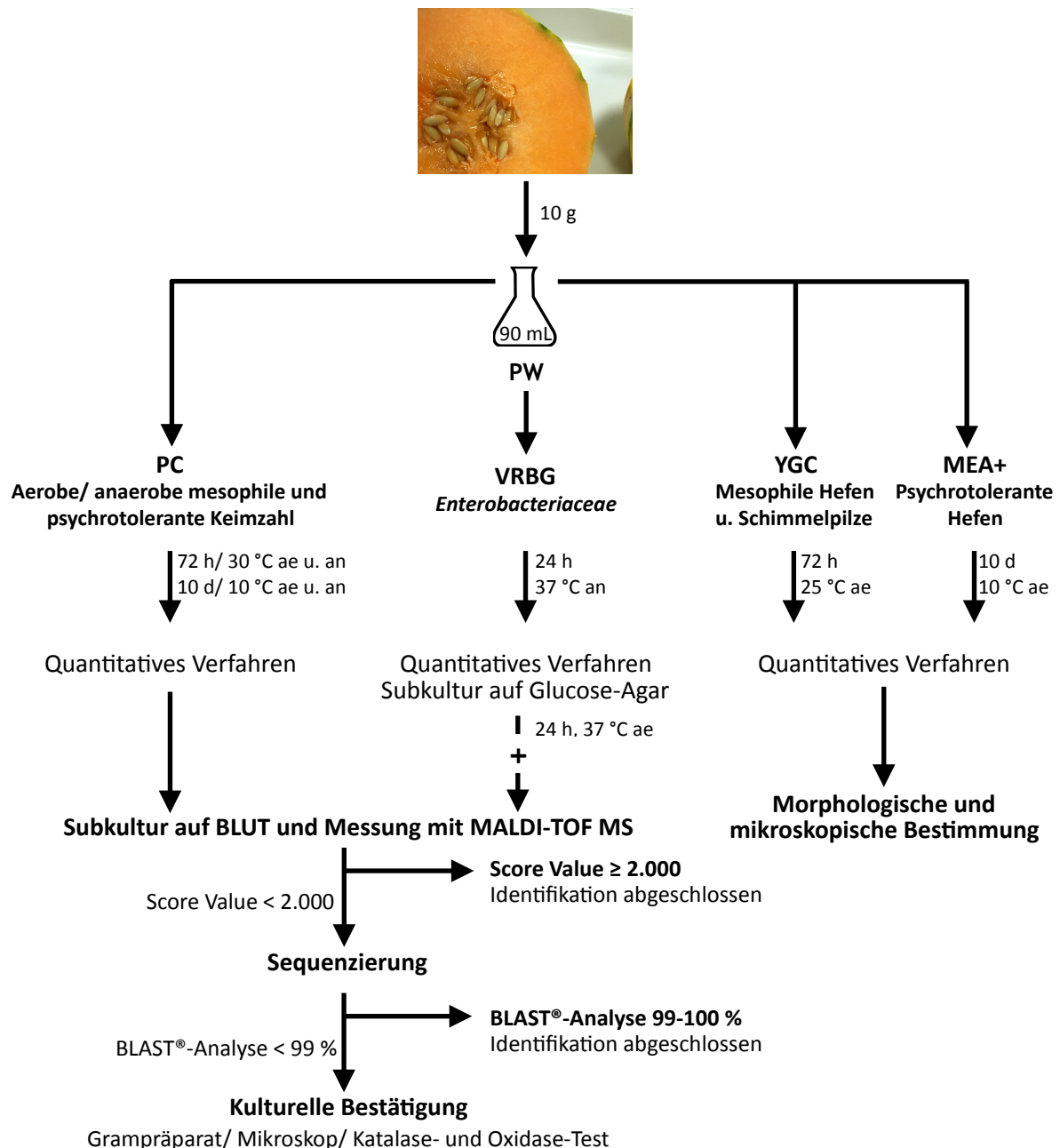
Die qualitativen Verfahren für die Untersuchung des Fruchtfleisches auf *Salmonella* spp. und *L. monocytogenes* wurden analog zu den Untersuchungen der Schale durchgeführt. Zusätzlich wurde eine Probe für die Sterilitäts-Kontrolle (SKo) entnommen (Abb. 13).



1/2FRASER: FRASER-*Listeria*-Selektiv-Anreicherungsbouillon (halbkonzentriert); ae: aerob; ALOA: *Listeria*-Agar nach Ottaviani und Agosti; an: anaerob; BLUT: Columbia Agar mit Schafblut; FRASER: FRASER-*Listeria*-Selektiv-Anreicherungsbouillon; HE: Hektoen-Enteric Agar; Oxford: Oxford-*Listeria*-Selektiv Agar; PW: gepuffertes Peptonwasser; RV: *Salmonella* Anreicherungsbouillon nach RAPPAPORT und VASSILIADIS; SKo: Sterilitäts-Kontrolle; XLD: Xylose-Lysin-Desoxycholat Agar

**Abbildung 13:** Ablauf der Probenahme und der qualitativen mikrobiologischen Untersuchung des Fruchtfleisches mit Angabe der Zeiten, Temperaturen sowie der verwendeten Nährmedien

Der quantitative mikrobiologische Status des Fruchtfleisches wurde durch die gleichen Parameter wie diejenigen der Schale bestimmt und die Untersuchung analog hierzu durchgeführt. Alle aus dem Fruchtfleisch gewachsenen Mikroorganismen wurden zusätzlich identifiziert (Abb. 14).



+ : Bestätigung; ae: aerob; an: anaerob; BLAST: Basic Local Alignment Search Tool; BLUT: Columbia Agar mit Schafblut; Glucose-Agar: Glucose-Caseinpepton Agar; MALDI-TOF MS: Matrix-Assisted Laser Desorption/ Ionization Time of Flight Mass Spectrometry; MEA+: Malz-Extrakt Agar plus Novobiocin; PC: Plate Count Agar; PW: gepuffertes Peptonwasser; VRBG: Kristallviolet-Neutralrot-Galle-Glucose Agar; YGC: Yeast-Glucose-Chloramphenicol Agar

**Abbildung 14:** Ablauf der quantitativen mikrobiologischen Untersuchung des Fruchtfleisches mit Angabe der Zeiten, Temperaturen sowie der verwendeten Nährmedien

Das Fruchtfleisch wurde auf dieselbe Weise wie die Schale auch auf *E. coli*, *B. cereus* und mesophile Clostridien untersucht (Abb. 12), wobei aus dem Fruchtfleisch alle mesophilen Clostridien identifiziert wurden, nicht nur *C. perfringens*-Verdächtige.

Die Erstverdünnung der Probenahme des Fruchtfleisches wurde zusätzlich auf BLUT ausplattiert, um auf weitere mesophile (37 °C, 24 h) und psychrotolerante (10 °C, 10 d) Mikroorganismen zu untersuchen. Die bereits bebrüteten Anreicherungsbouillons PW und FRASER wurden auch zusätzlich auf BLUT ausgestrichen. Die bei diesen Untersuchungen gewachsenen Mikroorganismen, sowie alle weiteren auf Selektivnährmedien gewachsenen Keime wurden wie alle aus dem Fruchtfleisch isolierten Mikroorganismen identifiziert (Abb. 14).

#### Untersuchung der Schale auf ESBL-bildende *Enterobacteriaceae*

Für das Screening wurde jeweils 10 g Schale in 90 mL TSB + Cefotaxim (1 mg/L) für 24 h bei 37 °C inkubiert. Anschließend erfolgte ein Ausspateln von 0,1 mL Voranreicherung auf Mac + Cefotaxim (1 mg/L) Agar. Die Bebrütung erfolgte wiederum für 24 h bei 37 °C. Verdächtige Kolonien wurden dann auf ESBL-Brilliance Agar (Fa. Oxoid Deutschland GmbH, Wesel, Deutschland) überimpft, für 24 h bei 37 °C bebrütet und mittels MALDI-TOF MS identifiziert.

Die Bestätigung erfolgte mittels MIC Test Strip ESBL (Fa. Liofilchem®, Roseto degli Abruzzi, Italien). Dazu wurden die auf ESBL-Agar verdächtigen Mikroorganismen jeweils auf ihre Empfindlichkeit gegenüber drei Antibiotikawirkstoffkombinationen geprüft (Tab. 9), indem verdächtige Kolonien in 0,85 %iger NaCl-Lösung homogenisiert (0,5 McFarland Trübungsstandard) und mit einem Wattetupfer auf Müller-Hinton Agar aufgebracht wurden. Abschließend wurden die Strips aufgelegt, für 24 h bei 37 °C inkubiert und nach Herstellerangaben (Analyse der Inhibitions-Ellipsen) ausgewertet.

**Tabelle 9:** Produktinformationen der verwendeten MIC Strip zur Bestätigung von ESBL-bildenden Mikroorganismen

Wirkstoffe	Konzentrationsbereich [µg/mL]	Firma	Artikelnr.
Cefepim/ Cefepim+Clavulansäure (4 µg/mL)	0.25-16 0.064-4	Liofilchem® s.r.l., Italien	92161
Cefotaxim/ Cefotaxim+Clavulansäure (4 µg/mL)	0.25-16 0.016-1	Liofilchem® s.r.l., Italien	92160
Ceftazidim/ Ceftazidim+Clavulansäure (4 µg/mL)	0.5-32 0.064-4	Liofilchem® s.r.l., Italien	92159



**Tabelle 10:** Methoden und verwendete Nährmedien, Verdünnungen und Anreicherungs-bouillons für die Untersuchung der äußeren Schale auf die verschiedenen mikrobiologischen Parameter

Parameter	Anreicherung/Verdünnung	Selektivnährmedium
<b>Quantitative Verfahren</b>		
Aerobe/ anaerobe mesophile Keime	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Plate Count Agar (PC) Direktes Spatelverfahren; 30 °C /72 h/ ae oder an
Aerobe/ anaerobe psychrotolerante Keime	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Plate Count Agar (PC) Direktes Spatelverfahren; 10 °C/10 d/ae oder an
Mesophile Hefen und Schimmelpilze	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Yeast-Glucose-Chloramphenicol Agar (YGC) Direktes Spatelverfahren; 25 °C/ 72 h/ ae
Psychrotolerante Hefen	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Malz-Extrakt Agar plus Novobiocin (MEA+) Direktes Spatelverfahren; 30 °C/ 72 h/ ae
<i>Enterobacteriaceae</i>	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Kristallviolet-Neutralrot-Galle-Glucose Agar (VRBG) Direktes Spatelverfahren; 37 °C/ 24 h/ an <b>B:</b> Glucose-Caseinpepton Agar 37 °C
<i>Escherichia coli</i>	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Chromocult® Tryptone-Bile-Xylose Agar (TBX) Direktes Spatelverfahren; 44 °C/ 24 h/ ae <b>B:</b> Indol-Test und MALDI-TOF-Messung
Mesophile Clostridien	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Tryptose-Sulfite-Cycloserine Agar(TSC) Gussverfahren; 37 °C/ 24 h/ an <b>B:</b> Columbia Agar mit Schafblut 37 °C/ 24 h/ an
<i>Bacillus cereus</i>	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Mannitol-Egg-Yolk-Polymixin Agar (MYP) Direktes Spatelverfahren; 30 °C/ 24 h/ ae + 20 °C/ 24 h/ ae <b>B:</b> Columbia Agar Schafblut 30 °C/ 24 h/ ae
<b>Qualitative Verfahren</b>		
<i>Salmonella</i> spp.	gepuffertes Peptonwasser (PW) 37 °C/ 24 h/ ae Rappaport-Vassiliadis (RV) 42 °C/ 24 h/ ae	Hektoen-Enteric Agar (HE) Xylose-Lysin-Desoxycholat Agar (XLD) 37 °C/ 24 h/ ae <b>B:</b> Objektträgeragglutination mit Anti-Salmonella A-67 (Omnivalent Test) und Biochemisch durch RKI
<i>Listeria monocytogenes</i>	FRASER-Listeria-Selektiv-Anreicherungsbouillon Halbkonzentriert (1/2FRASER) 30 °C/ 24 h/ ae Vollkonzentriert (FRASER) 37 °C/ 48 h/ ae	Listeria-Agar nach Ottaviani und Agosti (ALOA) Oxford-Listeria-Selektiv Agar (Oxford) 37 °C/ 24 h/ ae
Potentiell- und Hochresistente Keime	Tryptic-Soy-Broth plus Cefotaxim (TSB+); 37 °C/ 24 h/ ae	MacConkey Nr. 3 plus Cefotaxim (1 mg/mL (Mac+) und danach Brilliance Extended Spectrum β-Lactamase Agar (ESBL-Agar) jeweils 37 °C/ 24 h/ ae <b>B:</b> MIC Strip Test

ae: aeorb // an: anaerob // B: Bestätigung, alle weiteren Bestätigungen erfolgten mittels MALDI-TOF MS // RKI: Robert-Koch-Institut

**Tabelle 11:** Methoden und verwendete Nährmedien, Verdünnungen und Anreicherungs-bouillons für die Untersuchung des Fruchtfleisches auf die verschiedenen mikrobiologischen Parameter

Parameter	Anreicherung/Verdünnung	Selektivnährmedium/Verfahren
<b>Quantitative Verfahren</b>		
Aerobe/ anaerobe mesophile Keime	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Plate Count Agar (PC) Direktes Spatelverfahren; 30 °C/ 72 h/ ae und an
Aerobe/ anaerobe psychrotolerante Keime	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Plate Count Agar (PC) Direktes Spatelverfahren; 10 °C/10 d/ ae und an
Mesophile Hefen und Schimmelpilze	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Yeast-Glucose-Chloramphenicol Agar (YGC) Direktes Spatelverfahren; 25 °C/ 72 h/ ae <b>B:</b> Mikroskopisch
Psychrotolerante Hefen	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Malz-Extrakt Agar plus Novobiocin (MEA+) Direktes Spatelverfahren; 30 °C/ 72 h/ ae
<i>Enterobacteriaceae</i>	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Kristallviolet-Neutralrot-Galle-Glucose Agar (VRBG) Direktes Spatelverfahren; 37 °C/24 h/ an <b>B:</b> Glucose-Caseinpepton Agar 37 °C/ 24 h
<i>Escherichia coli</i>	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Chromocult® Tryptone-Bile-Xylose Agar (TBX) Direktes Spatelverfahren; 44 °C/24 h/ ae <b>B:</b> Indol-Test und MALDI-TOF-Messung
Mesophile Clostridien	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Tryptose-Sulfite-Cycloserine Agar (TSC) Gussverfahren; 37 °C/ 24 h/ an <b>B:</b> Columbia Agar mit Schafblut 37 °C/ 24 h/ an
<i>Bacillus cereus</i>	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Mannitol-Egg-Yolk-Polymixin Agar (MYP) Direktes Spatelverfahren; 30 °C/ 24 h/ ae + 20 °C/ 24 h/ ae <b>B:</b> Columbia Agar Schafblut 30 °C/ 24 h/ ae
<b>Qualitative Verfahren</b>		
<i>Salmonella</i> spp.	gepuffertes Peptonwasser (PW) 37 °C/ 24 h/ ae Rappaport-Vassiliadis (RV) 42 °C/ 24 h/ ae	Hektoen-Enteric Agar (HE) und Xylose-Lysin-Desoxycholat Agar (XLD); 37 °C/ 24 h/ ae <b>B:</b> Objektträgeragglutination mit Anti-Salmonella A-67 (Omnivalent Test) und biochemisch durch RKI
<i>Listeria monocytogenes</i>	FRASER-Listeria-Selektiv-Anreicherungsbouillon (FRASER) Halbkonzentriert 30 °C/ 24 h/ ae Vollkonzentriert 37 °C/ 48 h/ ae	Listeria-Agar nach Ottaviani und Agosti (ALOA) Oxford-Listeria-Selektiv Agar (Oxford) 37 °C/ 24 h/ ae
Aerobe/ anaerobe mesophile Keime auf BLUT	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Columbia Agar mit Schafblut (BLUT) Direktes Spatelverfahren 37 °C/ 24 h/ ae und an
Aerobe/ anaerobe psychrotolerante Keime auf BLUT	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Columbia Agar mit Schafblut (BLUT) Direktes Spatelverfahren 10 °C/ 10 d/ ae und an
Sterilitäts-Kontrolle	gepuffertes Peptonwasser (PW)	Columbia Agar mit Schafblut (BLUT) Direktes Spatelverfahren; 30 °C/ 24 h/ ae und an

ae: aerob // an: anaerob // B: Bestätigung, alle weiteren Bestätigungen erfolgten mittels MALDI-TOF MS // RKI: Robert-Koch-institut

### 3.5 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

#### 3.5.1 Materialien

Die Untersuchung auf das Vorkommen von DNA von *L. monocytogenes* und *Salmonella* spp. wurde mittels kommerzieller Real-Time PCR (qPCR) Kits durchgeführt. Dafür wurden die Kits iQ-Check™ *Listeria monocytogenes* und iQ-Check™ *Salmonella* II (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) verwendet. Es wurden sowohl die Schale als auch das Fruchtfleisch damit auf beide Mikroorganismen untersucht. Die PCR wurde mittels iCycler Thermocycler (Bio-Rad) durchgeführt.

#### 3.5.2 DNA-Extraktion

Zur Extraktion der DNA wurden die vorangereicherten Bouillons (PW und FRASER) (Abb. 10 und 13) 24 h bebrütet. Danach wurden 1 mL PW und 1,5 mL FRASER in sterile 1,5 mL Reaktionsgefäße überführt.

Nach Zentrifugation über 5 min bei 9700 *g* wurde der Überstand verworfen und das Sediment mit dem entsprechenden Lysis Reagenz A der iQ-Check™ Kits resuspendiert (Lysis Reagent A für *Salmonella* spp. und Lysis Reagent A plus Lysis beads Reagent B für *L. monocytogenes*).

Die Proben von *L. monocytogenes* wurden zusätzlich für 3 min bei einer Frequenz von 1800 pro min im Tissue Lyser (Fa. QIAGEN, Hilden, Deutschland) geschüttelt. Nach einer Erhitzung der Proben für 15 min bei 99 °C wurden diese mittels Vortex-Mixer (Fa. VELP Scientifica, Usmate, Italien) kurz gemischt und 5 min bei 9700 *g* zentrifugiert. Im Anschluss wurden 50 µL Überstand mit der freigesetzten Bakterien-DNA in sterile 0,5 mL Reaktionsgefäße pipettiert und bei einer Temperatur von 6-8 °C bis zur weiteren Nutzung aufbewahrt.

#### 3.5.3 Amplifikation

Die PCR-Reaktionsansätze wurden unter einer Sicherheitswerkbank in 0,5 mL Reaktionsgefäße entsprechend der Herstellerangaben überführt. Der Reaktionsansatz bestand dabei aus 5 µL Reagent B (Fluorescent-Sonden) und 40 µL Reagent C (Amplifikationsmix) des iQ-Check™ Kit, sowie 5 µL der Template-DNA. Das Reaktionsvolumen pro Probe betrug

insgesamt 50 µL. Die Reaktionsgefäße wurden in den Cyclor eingesetzt (Tab. 12) und die DNA-Amplifikation mit folgendem Programm durchgeführt:

**Tabelle 12:** PCR-Protokoll für die DNA-Amplifikation von *L. monocytogenes* und *Salmonella* spp.

Zyklen	Protokollschritt	Temperatur	Laufzeit
1x	Primärdenaturierung	95 °C	9 min
50x	Denaturierung	95 °C	15 s
	Annealing	58 °C	30 s
	Elongation	72 °C	30 s

### 3.5.4 Auswertung

Mithilfe der Bio-Rad iQ5 2.1 Optical System Software (Bio-Rad) wurden zwei Kurven, die FAM-Sonde (Reporter-Farbstoff: 6-FAM-phosphoramidit) und die HEX-Sonde (Inhibitions-kontrolle: Hexachloro-6-carboxy-fluorescein), dargestellt. Die PCR-Ergebnisse wurden anhand diese Kurven ausgewertet.

Für die Auswertung der negativen Amplifikationskurven wurde die HEX-Kurve kontrolliert, um falsch negative Ergebnisse infolge einer Inhibition zu überprüfen (Tab. 13). In diesem Fall wurde die DNA verdünnt (entsprechend Herstellerangaben) und die PCR wiederholt.

**Tabelle 13:** Protokoll für die PCR-Ergebnisauswertung für den Nachweis von *L. monocytogenes* und *Salmonella* spp.

<i>Salmonella</i> spp./ <i>Listeria monocytogenes</i> -Detektion	Detektion interne Kontrolle	Interpretation
Ct ≥ 11	-	POSITIV
Ct = N/A	Ct ≥ 28	NEGATIV
Ct = N/A	Ct = N/A	INHIBITION

Ct: Cycle threshold // N/A: not applicable

### 3.6 MALDI-TOF MS

Zur Identifizierung isolierter Kolonien wurde eine Messung mittels MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/ Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) durchgeführt.

#### 3.6.1 Geräteausstattung

Die massenspektrometrischen Messungen zur Identifizierung der Bakterien-Isolate wurden an einem Autoflex Speed MALDI TOF/TOF Massenspektrometer durchgeführt (Fa. Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Deutschland). Die Gerätesteuerung und die Aufnahme der Massenspektren erfolgten mittels der Software flexControl Version 3.4 (Bruker Daltonik). Die Massenspektren wurden anschließend mit der Auswertesoftware flexAnalysis Version 3.4 analysiert. Als Proben targets wurden sowohl „Ground steel“, als auch „Polished steel“ (Bruker Daltonik) genutzt.

#### 3.6.2 Probenpräparation

Die Probenpräparation wurde je nach Anforderung mit zwei verschiedenen Methoden durchgeführt: „Extended Direct Transfer“ und „Formic Acid Extraction“ (Bruker Daltonik GmbH, 2014). Die Mikroorganismen wurden in der Regel zwischen 18 h und 24 h vor der Probenpräparation subkultiviert und wieder unter den gleichen Bedingungen, in denen sie inkubiert wurden, wieder bebrütet. Psychrotolerante Mikroorganismen benötigten eine längere Bebrütung für das Wachstum.

Für die Herstellung der benutzten Matrix wurden 14 mg  $\alpha$ -Cyano-4-Hydroxymizinsäure (CHCA) in einer Mischung aus 500  $\mu$ L Acetonitril (ACN), 475  $\mu$ L DNase freiem Wasser und 25  $\mu$ L Trifluoressigsäure (TFA) für jede Präparation frisch gelöst.

##### „Extended Direct Transfer“-Methode

Diese Methode ergibt eine partielle Extraktion der Proteine auf dem Target und wurde standardmäßig für die Identifizierung der Mikroorganismen verwendet.

Dazu wurde eine dünne Schicht biologisches Material (einzelne Kolonie) mittels Holzapplikationsstäbchens auf einen Spot des „Ground steel“ MALDI-Targets aufgebracht, mit 1  $\mu$ L 70 % Ameisensäure bedeckt und bei Raumtemperatur getrocknet. Danach wurde

1  $\mu\text{L}$  CHCA-Matrix auf den vorbereitet Spot pipettiert und wiederum bei Raumtemperatur getrocknet.

#### „Formic Acid Extraction“-Methode

Die Extraktion mit Ameisensäure wurde für schleimige Kolonien, für Keime mit dicken Zellwänden und alle nicht mit „Extended Direct Transfer“ identifizierten Keime verwendet.

Dazu wurden 300  $\mu\text{L}$  DNase freies Wasser in 1,5 mL Reaktionsgefäße vorgelegt und das biologische Material darin gelöst und homogenisiert. Anschließend wurden 900  $\mu\text{L}$  Ethanol hinzugegeben und alles durchmischt. Nach Zentrifugation bei 14100  $g$  für 2 min wurde der Überstand verworfen und das Pellet erneut zentrifugiert. Nach Entfernung des Restethanols wurde das Pellet 3 min bei Raumtemperatur getrocknet und mit 40  $\mu\text{L}$  70 %iger Ameisensäure resuspendiert. Danach wurden 40  $\mu\text{L}$  reines ACN in die Reaktionsgefäße pipettiert und vorsichtig gemischt.

Nach Zentrifugation über 2 min bei 14100  $g$  wurde 1  $\mu\text{L}$  Überstand entnommen und auf einen Spot des MALDI-Targets pipettiert. Auf die schon getrockneten Spots wurden 1  $\mu\text{L}$  Matrix pipettiert und bei Raumtemperatur bis zur Messung getrocknet.

### **3.6.3 Probenmessung**

Für die Identifizierung mittels MALDI-TOF MS im linearen position Modus wurden die in Tabelle 14 Messparameter benutzt.

**Tabelle 14:** Messparameter der MALDI-Messung (Bruker Daltonik)

<b>Messparameter</b>	
Laser-Anfangsleistung	40 %
Maximale Laserleistung	50 %
Laseranpassung	Fuzzy control, Gewichtung 1.50
Massenbereich (m/z)	4000-10000 Da
Prozessierungsmethode	MBT_Process
Minimale Auflösung	400
Anzahl summierter Spektren	2000
Laserschusszahl je Spot	200
Bewegung	Random walk

### 3.6.4 Identifizierung mittels MALDI-Biotyper

Die Analyse der Spektren wurde mittels Biotyper OC-Software (Bruker Daltonik) durchgeführt. Dabei wurden die gemessenen Massenspektren mit hinterlegten Referenzspektren in der Datenbank der Software Biotyper 3.0™ Datenbank (Bruker Daltonik) abgeglichen. Die Übereinstimmung wurde anhand von Score Values angegeben und anhand der Grenzwerte der Tabelle 15 ausgewertet.

**Tabelle 15:** Kriterien für die Identifikation mittels Biotyper OC-Software (Bruker Daltonik)

Score Value	Beschreibung
2.300 - 3.000	Hochwahrscheinliche Spezies-Identifikation
2.000 - 2.299	Sichere Gattung-Identifikation, wahrscheinliche Spezies-Identifikation
1.700 - 1.999	Wahrscheinliche Gattung-Identifikation
0.000 - 1.699	Unverlässliche Identifikation

## 3.7 Sequenzierung

Die Isolate, die nicht durch MALDI-TOF MS identifiziert werden konnten, wurden einer 16S-Sequenzanalyse unterzogen.

### 3.7.1 DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktion wurde mittels High Pure PCR Template Kit von Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland sowie den in Tabelle 16 aufgeführten, zusätzlich benötigten Materialien durchgeführt.

**Tabelle 16:** Verwendete Materialien und Reagenzien zur DNA-Extraktion

Materialien	Firma	Artikelnr.
Phosphate buffered saline (PBS-Puffer)	bioMérieux GmbH, Deutschland	75 512
Lysozym, egg white	AMRESCO LLC, Vereinigte Staaten	0663-10G
Gasperlen 2 mm	Merck KGaA, Deutschland	1.04014.0500

Ein Ösenabstrich des Isolats wurde in 9 mL gepuffertem Peptonwasser homogenisiert und entsprechend der ursprünglich verwendeten Anzuchttemperatur und -zeit bebrütet.

Nach der Bebrütung wurde 1 mL Lösung in ein steriles 1,5 mL-Reaktionsgefäß pipettiert und für 5 min bei 2539 *g* zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert, das Pellet mit 0,5 mL PBS-Puffer resuspendiert und mit 2 bis 5 Glasperlen (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) für 30 Sekunden bei einer Frequenz von 1800 pro min mit dem Tissue Lyser (QIAGEN) geschüttelt. 5 µL Lysozym wurden in die Gefäße pipettiert und nach einer kurzen Mischung mit dem Vortex-Mixer für 15 min bei 37 °C im Thermomixer (Fa. Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) inkubiert.

Zur Hemmung von Störfaktoren wurden 200 µL Binding-Buffer hinzugegeben und gemischt, anschließend wurde 40 µL Proteinase K dazugegeben wiederum gemischt. Nach einer erneuten Behandlung für 10 min bei 70 °C im Thermomixer wurde die Lösung mit 100 µL Isopropanol gemischt, in ein Silika-Säulchen pipettiert und für 1 min bei 9019 *g* zentrifugiert. Das Säulchen wurde wieder in ein neues Gefäß überführt und mit 500 µL Inhibitor Remove Buffer auf das Säulchen pipettiert und zentrifugiert. Nach Wechsel des Säulchens in ein neues Gefäß wurden 500 µL Washing Buffer dazugegeben und wieder zentrifugiert. Nach der Wiederholung dieses Schrittes wurden 200 µL 70 °C warmer Elutions Buffer auf die Säulchen pipettiert und für 5 min bei 9019 *g* zentrifugiert. Das Reaktionsgefäß mit der extrahierten DNA wurde bis zur Anfertigung des Master-Mixes bei +4 °C kühl aufbewahrt.

### 3.7.2 PCR

Für die DNA-Amplifizierung wurde eine konventionelle 16S-UNI-PCR (Tab. 17) mittels iCycler Themocycler (Bio-Rad) durchgeführt. Der Master-Mix wurde dafür mit dem GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase Kit (Fa. Promega GmbH, Mannheim, Deutschland) vorbereitet und der PCR Ansatz entsprechend Tab. 18 angesetzt. Die PCR wurde mit dem in Tabelle 19 beschriebenen Protokoll durchgeführt.

**Tabelle 17:** *Verwendete Sequenzierprimer und deren Basenabfolge für die konventionelle 16S-UNI-PCR (Smalla et al., 2007)*

Primer	Basenabfolge	Firma/ Ort
Primer 27F	5'-AGAGTTTGATC[A/C]TGGCTCAG-3'	Eurofins Genomics GmbH, Ebersberg, Deutschland
Primer 926R	5'-CCGTCAATTCCTTTRAGTTT-3'	Eurofins Genomics GmbH, Ebersberg, Deutschland



**Tabelle 18:** PCR-Master Mix-Ansatz für die Sequenzierung

Ansatz	Volumen
5x Colorless	10 µL
MgCl <sub>2</sub>	4 µL
dNTP's [0,2 mM]	2 µL
Primer 16S UNI F und R [0,2 µM]	2 µL
GoTaq Polymerase	0,5 µL
DNase freies Wasser (Molecular Biology Grade)	29,5 µL
Template DNA	2 µL
Gesamt	50 µL

**Tabelle 19:** 16S-UNI-PCR Protokoll für die Sequenzierung

Zyklen	Protokollschritt	Temperatur	Laufzeit
1x	Initialdenaturierung	95 °C	10 min
35x	Denaturierung	95 °C	1 min
	Annealing	53 °C	1 min
	Elongation	72 °C	90 s
1x	Finalelongation	72 °C	10 min

### 3.7.3 Gel-Elektrophorese

Um die durch die PCR erzeugten Amplifikate zu überprüfen, wurde eine Agarose-Gel-Elektrophorese mittels 1 %igen Agarose-Gels durchgeführt. Ein Teil der Amplifikate wurde vorab mit 5x Nucleic Acid Sample Loading Buffer (Fa. Bioline GmbH, Luckenwalde, Deutschland) vermischt. Als Längenstandard wurde die Hyperladder II - 100 Lanes (Bioline GmbH) verwendet. Die Laufzeit der Gel-Elektrophorese betrug 45 min bei 120 V.

Anschließend wurde das Agarose-Gel für 15 min in einem 5 %igem Ethidiumbromidbad (0,5 µg/mL) gefärbt und dann 10 min in Aqua dest. gewaschen. Die Visualisierung der Amplifikate wurde unter UV-Licht im Molecular Imager® Gel Doc™ XR (Bio-Rad) und mittels Quantity One 4.6.9 1-D Analysis Software durchgeführt.

### **3.7.4 DNA-Aufreinigung**

Die PCR-Amplifikate wurden direkt mittels QIAquick® PCR Purification Kit 250 (QIAGEN) oder nach Visualisierung aus dem Agarose-Gel mittels Kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega) ausgeschnitten und aufgereinigt.

#### PCR-Amplifikat-Aufreinigung

Die direkte DNA-Aufreinigung des PCR-Amplikates wurde entsprechend der Angaben des Herstellers durchgeführt. Dazu wurden in einem 1,5 mL Reaktionsgefäß zu 40 µL Amplifikat 200 µL Phosphatpuffer zugegeben und gemischt. Bei Bedarf (Farbumschlag) wurde zusätzlich 10 µL 3M Natriumacetat (pH 5) für eine pH-Wert-Anpassung zugegeben. Die Mischung wurde in ein Säulchen mit Collection Tube pipettiert und für 1 min bei 11300 *g* zentrifugiert. Dann wurde das Collection Tube entleert, wieder unter das Säulchen gesteckt und mit 750 µL Waschpuffer gewaschen. Das Säulchen wurde in ein neues Reaktionsgefäß gegeben, 50 µL Elutionspuffer (10 mM Tris-HCl, pH 8,5) hinzu pipettiert und für 1 min bei 11300 *g* zentrifugiert. Im Reaktionsgefäß wurde die aufgereinigte DNA gesammelt. Die Produkte wurden mittels Gel-Elektrophorese überprüft.

#### Gelaufreinigung

Diese Methode wurde benutzt, um eine spezifische Amplifikationsbande aus dem Gel aufzureinigen. Dafür wurde die visualisierte Bande mit einem Gel Extractor x-tracta™ (Promega) entnommen, in ein 1,5 mL Reaktionsgefäß gegeben und gewogen. Dann wurden 10 µL Membrane Binding Solution pro 10 mg Gel hinzupipettiert, mittels Vortex-Mixer gemischt und bei 60 °C bis zur kompletten Auflösung im Thermomixer erhitzt.

Die Flüssigkeit wurde in ein Säulchen mit Collection Tube pipettiert und für 1 min bei 14100 *g* zentrifugiert. Danach wurden 700 µL Membrane Wash Solution dazu gegeben und wieder für 1 min bei 14100 *g* zentrifugiert. Das Collection Tube wurde entleert, 500 µL Membrane Wash Solution in das Säulchen pipettiert und für 5 min bei 14100 *g* zentrifugiert. Danach wurde wieder das Collection Tube entleert und die Gesamtheit wieder für 1 min bei 14100 *g* zentrifugiert. Anschließend wurde das Säulchen in ein neues 1,5 mL Reaktionsgefäß eingesetzt, mit 50 µL Nuclease-freiem Wasser benetzt, für 1 min bei Raumtemperatur inkubiert und dann für 1 min bei 14100 *g* zentrifugiert. Das Säulchen wurde dann entfernt und das Reaktionsgefäß mit dem aufgereinigtem Produkt mit einer Konzentration von 5 ng/µL bei +4 °C gelagert.

### **3.7.5 Sequenzierung**

Die Sequenzanalyse wurde durch die Firma Eurofins Genomics GmbH, Ebersberg, Deutschland, durchgeführt. Die Auswertung der übermittelten Daten erfolgte über eine BLAST®-Analyse (Basic Local Alignment Search Tool) mit dem Abgleich gegen die Nukleotid-Datenbank des National Center for Biotechnology Information (NCBI).

### **3.8 Charakterisierung nicht identifizierter Mikroorganismen**

Die Mikroorganismen, die durch die o.g. Methoden nicht identifiziert werden konnten, wurden weiteren mikrobiologischen Tests unterzogen.

Mittels Gramfärbung wurden die Bakterien in grampositive und gramnegative Bakterien eingeteilt. Dafür wurde eine Kolonie auf einem Objektträger zusammen mit einem Tropfen NaCl verrieben, getrocknet und mittels thermischer Behandlung auf dem Objektträger fixiert. Die Färbung erfolgte durch eine Behandlung beginnend mit Kristallviolett (Merck KGaA) (1:3 verdünnt) für drei Minuten, dann einer Färbung für drei Minuten mit Lugol'scher Lösung (Merck KGaA) und nach Entfärbung mit 89 %igem Ethanol mit einer abschließenden Gegenfärbung mit Safranin für eine Minute.

Für den Katalase-Test wurde ein Tropfen Bactident®-Katalase-Reagenz (Merck KGaA) mit einer Kolonie auf einem Objektträger vermischt. Eine Gasbildung wurde als positiv gewertet. Für den Oxidase-Test wurde eine Kolonie auf Filterpapier aufgetragen und mit einem Tropfen Bactident®-Oxidase-Reagenz (Merck KGaA) beträufelt. Eine blaue Verfärbung des Koloniematerials wurde als positiv gewertet.

### **3.9 Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung erfolgte mittels des SPSS Statistik-Programms Version 23 (Fa. IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland). Der Mann-Whitney-U-Test wurde für den Vergleich der Koloniezahlen der Schale angewendet. Die Auswertung der Ergebnisse des Fruchtfleisches erfolgte mittels Chi-Quadrat-Test. Bei sehr niedrigen erwarteten Fallzahlen ( $< 5$ ) wurde zur Beurteilung der statistischen Signifikanz der exakte Test nach Fisher herangezogen. Dieser wurde auch für die Auswertung von Zusammenhängen der aus dem Fruchtfleisch isolierten Mikroorganismen verwendet. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt.

## 4 Ergebnisse

Bei der Auswertung der Ergebnisse wurden die Galia-Melonen ( $n = 20$ ) mit dem zusätzlichen Kürzel „Ga“ nach der Nummer der Melone betitelt, um sie von den Cantaloupe-Melonen ( $n = 127$ ) zu unterscheiden. In den Abbildungen 15 bis 24 sowie 26 repräsentieren die Farben grün und orange jeweils Ergebnisse zur Schale bzw. zum Fruchtfleisch. Alle Einzelergebnisse finden sich in den Tabellen 45 bis 49 im Anhang.

### 4.1 Äußere Schale

#### 4.1.1 Mikrobiologischer Status

Im Rahmen der Arbeit wurde der mikrobiologische Status der äußeren Schale bestimmt, der sich aus den Ergebnissen der folgenden Untersuchungen zusammensetzte:

- Aerobe mesophile Keimzahl (PC30ae)
- Anaerobe mesophile Keimzahl (PC30an)
- Aerobe psychrotolerante Keimzahl (PC10ae)
- Anaerobe psychrotolerante Keimzahl (PC10an)
- *Enterobacteriaceae* (VRBG)
- Mesophile Schimmelpilze (YGCSchimmel)
- Mesophile Hefen (YGCHefen)
- Psychrotolerante Hefen (MEA+)

Es wurde für jeden Parameter eine Koloniezahlbestimmung im Oberflächenverfahren durchgeführt und die Ergebnisse dann mit den Richt- und Warnwerten der DGHM zur Beurteilung von vorgeschnittenem Obst (DGHM, 2011), sowie den Kriterien der VO (EG) Nr. 2073/2005 verglichen (Tab. 4).

Eine Kontamination der Schale mit Mikroorganismen war bei 100 % der untersuchten Proben gegeben. Die Belastung lag zwischen  $5,0 \times 10^3$  und  $8,4 \times 10^8$  KbE/g. Laut der DGHM liegt der Richtwert für aerobe mesophile Keime bei  $5,0 \times 10^7$  KbE/g für vorgeschnittenes Obst. Würde man von einer Kreuzkontamination von der Schale auf das Fruchtfleisch von 100 % ausgehen, erreichten 34,0 % aller 147 Proben diesen Wert. Der Median der *Enterobacteriaceae* ( $7,8 \times 10^3$  KbE/g) lag unter dem Richt- ( $1,0 \times 10^4$  KbE/g) und dem Warnwert ( $1,0 \times 10^5$  KbE/g), obwohl 27,2 % der untersuchten Melonen den Warnwert überschritten haben. 27 davon

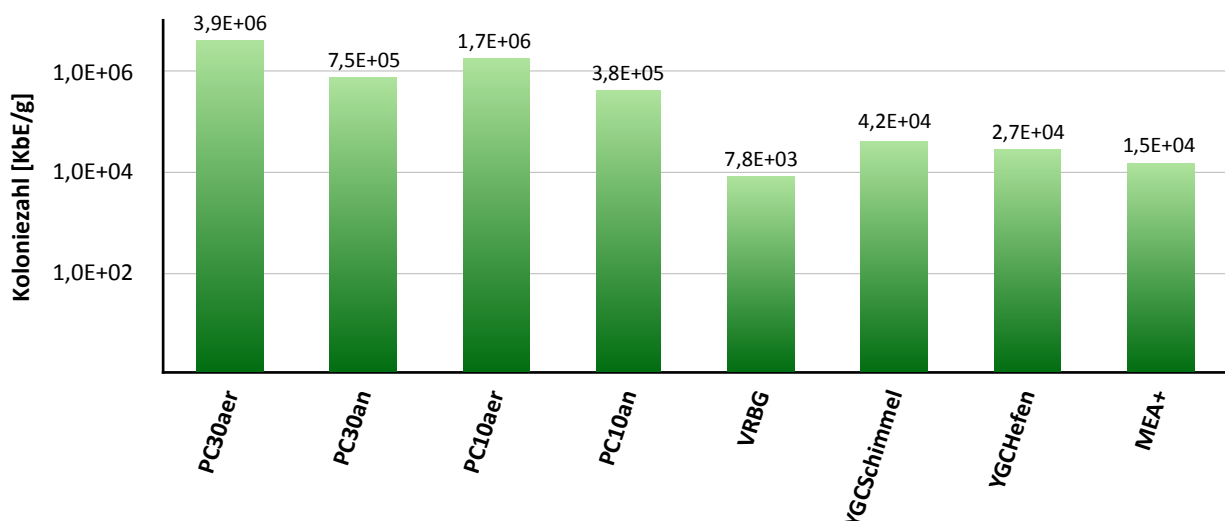
stammten aus Südamerika und 14 aus der Mittelmeer-Region. Der Medianwert mesophiler Schimmelpilze ( $4,2 \times 10^4$  KbE/g) überschritt als einziger den Richtwert von  $1,0 \times 10^3$  KbE/g der DGHM. Die Koloniezahlen von mesophilen und psychrotoleranten Hefen lagen zwischen  $< 10^2$  und  $3,9 \times 10^7$  KbE/g (Tab. 20, Abb. 15). Die DGHM stellt für mesophile Hefen einen Richtwert von  $1,0 \times 10^5$  KbE/g fest, aber keinen Warnwert. Keiner dieser Parameter zeigte einen statistisch signifikanten ( $p < 0,05$ ) Zusammenhang mit dem Reifegrad der Melonen.

**Tabelle 20:** Mikrobiologischer Status der äußeren Schale aller Melonen in KbE/g

Parameter	Anteil kontaminierter Melonen	Minimum [KbE/g]	Maximum [KbE/g]
Aerobe mesophile Keimzahl	100 %	$5,0 \times 10^3$	$8,4 \times 10^8$
Anaerobe mesophile Keimzahl	90,1 %*	$< 10^2$	$4,4 \times 10^8$
Aerobe psychrotolerante Keimzahl	97,3 %	$< 10^2$	$1,0 \times 10^8$
Anaerobe psychrotolerante Keimzahl	82,9 %*	$< 10^2$	$1,0 \times 10^8$
<i>Enterobacteriaceae</i>	70,1 %	$< 10^2$	$8,3 \times 10^8$
Mesophile Schimmelpilze	82,9 %	$< 10^2$	$1,0 \times 10^7$
Mesophile Hefen	91,8 %	$< 10^2$	$1,2 \times 10^7$
Psychrotolerante Hefen	87,1 %	$< 10^2$	$3,9 \times 10^7$

KbE/g: Koloniebildende Einheiten

\* Aufgrund technischer Schwierigkeiten geringere Probeanzahl ausgewertet

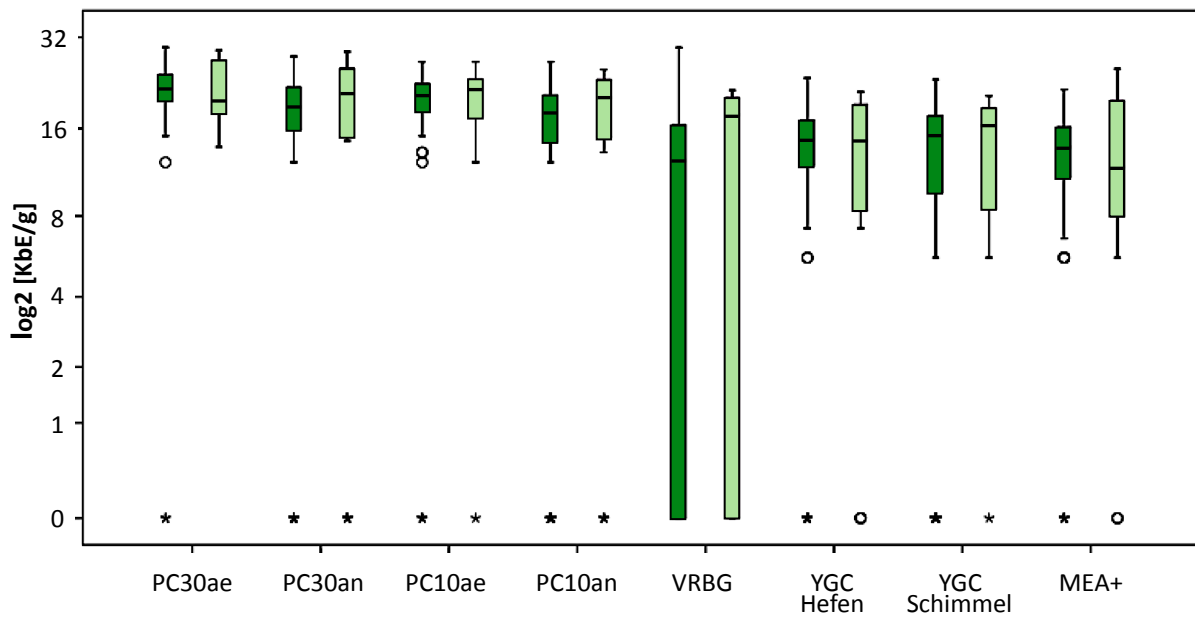


PC30aer: aerobe mesophile Keimzahl; PC30an: anaerobe mesophile Keimzahl; PC10aer: aerobe psychrotolerante Keimzahl; PC10an: anaerobe psychrotolerante Keimzahl; VRBG: *Enterobacteriaceae*; YGCSchimmel: mesophile Schimmelpilze; YGCHeften: mesophile Hefen; MEA+: psychrotolerante Hefen

**Abbildung 15:** Medianwert der Koloniezahlen aller Parameter des mikrobiologischen Status der Untersuchung der äußeren Schale ( $n = 147$ )

### Vergleich der Melonensorten

Bei der statistischen Auswertung wurde auf eine Korrelation zwischen den Parametern des mikrobiologischen Status der äußere Schale und den Melonensorten untersucht. Bei keinem dieser Parameter wurde ein statistisch signifikanter ( $p < 0,05$ ) Zusammenhang mit den Melonensorten festgestellt (Abb. 16).

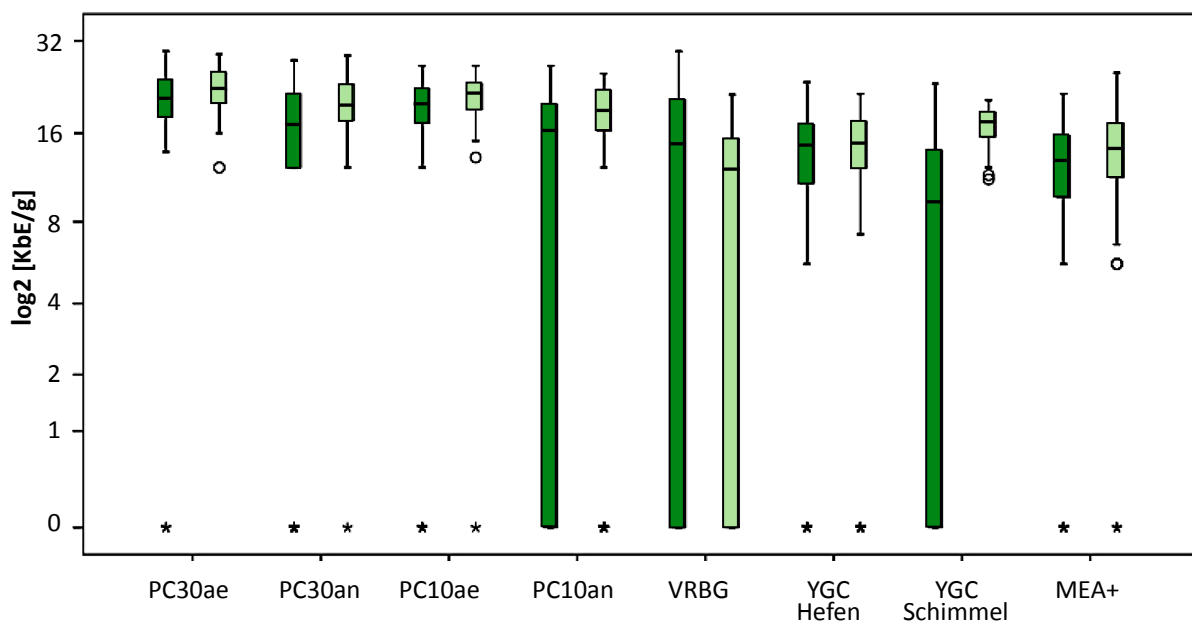


PC30aer: aerobe mesophile Keimzahl; PC30an: anaerobe mesophile Keimzahl; PC10aer: aerobe psychrotolerante Keimzahl; PC10an: anaerobe psychrotolerante Keimzahl; VRBG: *Enterobacteriaceae*; YGCSchimmel: mesophile Schimmelpilze; YGCHefen: mesophile Hefen; MEA+: psychrotolerante Hefen  
o: Ausreißer; \*: Extreme Werte

**Abbildung 16:** Vergleichende Darstellung aller Parameter des mikrobiologischen Status der Schale zwischen den Melonensorten: Cantaloupe (dunkelgrün, linker Boxplot je Parameter) und Galia (hellgrün, rechter Boxplot je Parameter)

### Vergleich der Ursprungsregionen

Zusätzlich wurde ein Einfluss der Herkunft der Melonen auf den mikrobiologischen Status der Schale statistisch überprüft. Dafür wurden die Länder in zwei große Regionen gruppiert: Brasilien, Honduras und Costa Rica in die Region „Südamerika“ und Marokko, Italien und Spanien in die Region „Mittelmeer“. Es wurde für die Parameter aerobe ( $p = 0,03$ ) und anaerobe ( $p = 0,00$ ) mesophile Keimzahl, aerobe ( $p = 0,00$ ) und anaerobe ( $p = 0,02$ ) psychrotolerante Keimzahl, sowie mesophile Schimmelpilze ( $p = 0,00$ ) ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt. Die Proben der Mittelmeer-Region waren bei diesen Parametern signifikant höher belastet als die Melonen aus der Region Südamerika. Die anderen Parameter zeigten keinen statistisch signifikanten Zusammenhang ( $p > 0,05$ ). Eine grafische Darstellung findet sich in Abbildung 17.



PC30aer: aerobe mesophile Keimzahl; PC30an: anaerobe mesophile Keimzahl; PC10aer: aerobe psychrotolerante Keimzahl; PC10an: anaerobe psychrotolerante Keimzahl; VRBG: *Enterobacteriaceae*; YGCSchimmel: mesophile Schimmelpilze; YGCHefen: mesophile Hefen; MEA+: psychrotolerante Hefen  
o: Ausreißer; \*: Extreme Werte

**Abbildung 17:** Vergleichende Darstellung aller Parameter des mikrobiologischen Status der Schale zwischen den Ursprungsregionen: Südamerika (dunkelgrün, linker Boxplot je Parameter) und Mittelmeer (hellgrün, rechter Boxplot je Parameter)

#### 4.1.2 Ausgewählte lebensmittelassoziierte Krankheitserreger

##### Salmonella spp.

*Salmonella* spp. konnte bei der molekularbiologischen Untersuchung der Schale mittels spezifischer qPCR (iQ-Check™ *Salmonella* II) in keiner der untersuchten Melonen nachgewiesen werden. Das PCR-Screening erfolgte aus der unselektiven Voranreicherung (PW).

In der kulturellen Untersuchung wurde auf der Schale der Cantaloupe-Melone Nr. 51 mit Reifegrad 3 *Salmonella* spp. nachgewiesen und sowohl in der Agglutinationsreaktion als auch mit MALDI-TOF MS bestätigt. Die durch das Robert-Koch-Institut durchgeführte Serotypisierung ergab *Salmonella* Braenderup (Typisierungsergebnis: 6,7:e,h:e,n,z15). Eine Kontamination der Schale mit *Salmonella* spp. konnte somit bei 0,7 % aller untersuchten Melonen nachgewiesen werden.

##### Listeria monocytogenes

Drei der 147 Melonenschalen (2,0 %) waren positiv für *L. monocytogenes* mittels der durchgeführten qPCR (iQ-Check™ *Listeria monocytogenes*) (Tab. 21). Diese Nachweise sind aus molekularbiologischer Sicht aufgrund der Ct-Werte (Ct > 35) jedoch als fraglich zu bezeichnen. Die drei Cantaloupe-Melonen waren vom Reifegrad 2 und stammten aus der Mittelmeer-Region. Durch die spezifische kulturelle Untersuchung der Schale konnte *L. monocytogenes* auf keiner der untersuchten Melonen nachgewiesen werden.

**Tabelle 21:** PCR-positive Proben der Untersuchung der äußeren Schale auf *L. monocytogenes*

Melone Nr.	Ursprungsland	Reifegrad	Ct-Wert (FAM)
69	Spanien	2	38,54
72	Spanien	2	46,54
117	Spanien	2	41,09

Ct: Cycle threshold

##### Escherichia coli

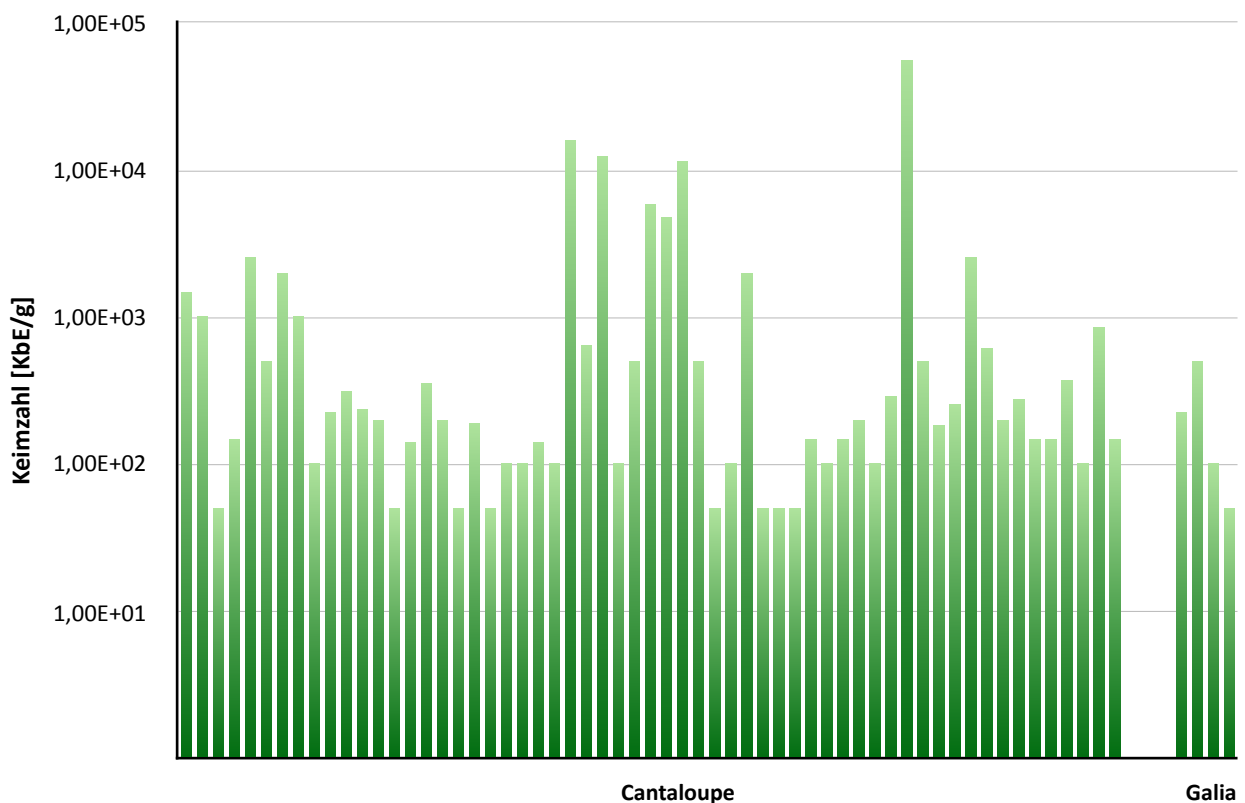
In der kulturellen Untersuchung konnte auf zwei von 147 Melonen (1,4 %) *E. coli* nachgewiesen werden. Die betroffenen Melonen waren Nr. 10 und Nr. 94, die jeweils aus der Region Südamerika (Brasilien) und Mittelmeer (Italien) stammten. Beide Melonen hatten



einen Reifegrad von 1. Die Bestätigung erfolgte mittels Kultur und einer MALDI-TOF MS Messung (Score Value: 2.504/ 2.429).

#### Präsumtive *Bacillus cereus*

Auf 63 der 147 Melonenschalen (42,9 %) konnten kulturell präsumtive *Bacillus cereus* nachgewiesen werden. Davon waren drei Galia-Melonen (15,0 %) und 60 Cantaloupe-Melonen (47,2 %) kontaminiert. Es konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Häufigkeit der Belastung mit *Bacillus cereus* und der Melonensorte nachgewiesen werden. Cantaloupe-Melonen waren signifikant häufiger belastet ( $p = 0,01$ ), als die Galia-Melonen. 35 der positiven Melonen (47,9 %) stammten aus der südamerikanischen Region und 28 aus der Mittelmeer-Region (37,8 %). Die Belastung mit *Bacillus cereus* wurde auf Melonen aller Reifegrade nachgewiesen. Die Koloniezahlen bewegten sich im Bereich von  $5,0 \times 10^1$  bis  $5,6 \times 10^4$  KbE/g mit einem Medianwert aller Melonen von  $< 1,0 \times 10^2$  KbE/g (Abb. 18; Tab. 45).

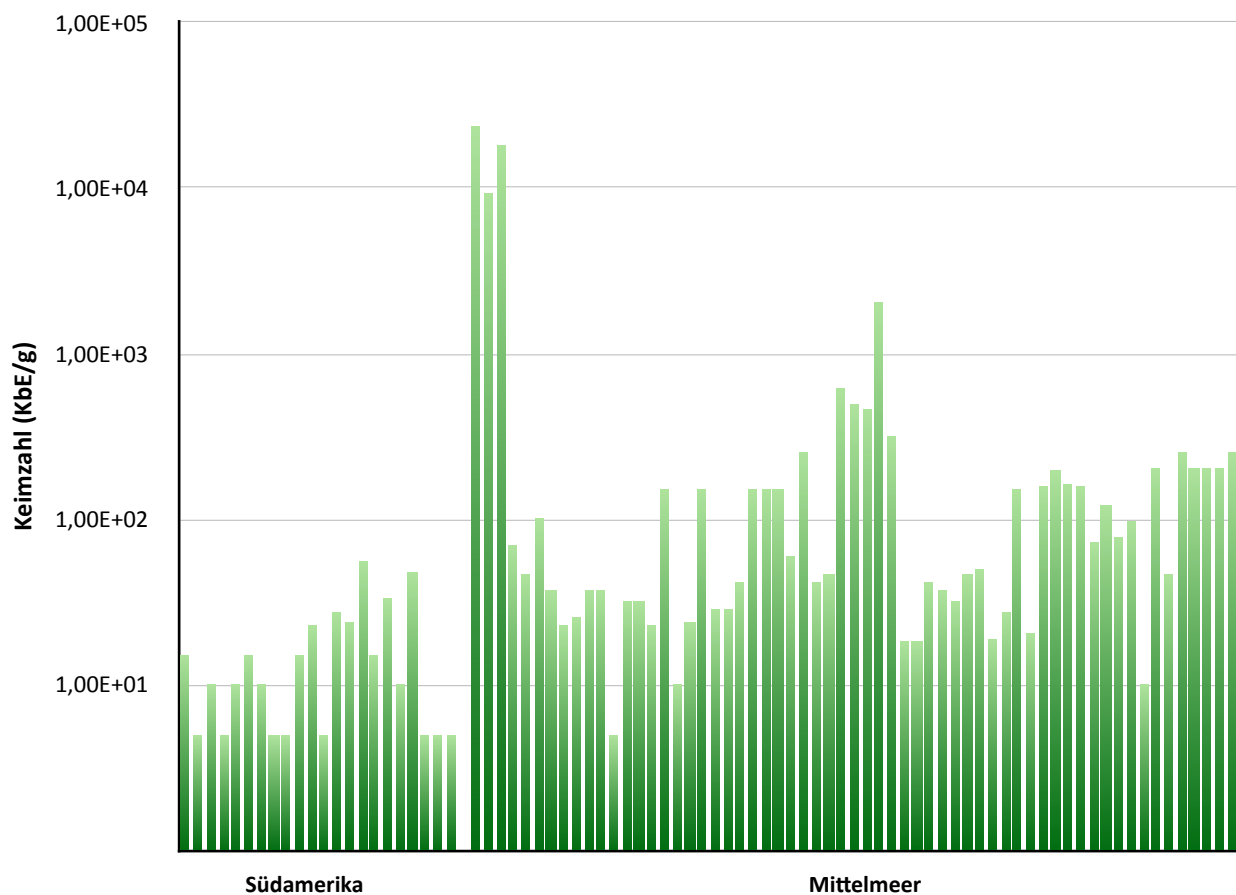


**Abbildung 18:** Darstellung der Koloniezahlen präsumtiver *Bacillus cereus* auf der äußeren Schale, verteilt nach Melonensorte

### Mesophile sulfitreduzierende Clostridien

Die Untersuchung auf mesophile sulfitreduzierende Clostridien ergab einen Nachweis bei 82 der 147 untersuchten Melonen (55,8 %) und zwar bei 74 Cantaloupe-Melonen (58,3 %) und acht Galia-Melonen (40,0 %). Die Keimzahl der nachgewiesenen Clostridien schwankte zwischen 5,0 KbE/g und  $2,3 \times 10^4$  KbE/g (Abb. 19). Der Medianwert der Koloniezahlen aller untersuchten Melonen lag bei  $1,0 \times 10^1$  KbE/g. Melonen aller drei Reifegrade waren mit diesen Mikroorganismen belastet.

Von den positiven Melonen 61 stammten aus der Mittelmeer-Region (82,4 %) und 22 aus Südamerika (30,1 %). Die Melonen aus der Mittelmeer-Region zeigten eine signifikant ( $p = 0,00$ ) häufigere Belastung mit diesen Mikroorganismen als die Melonen aus Südamerika.



**Abbildung 19:** Darstellung der Koloniezahlen sulfitreduzierender mesophiler Clostridien auf der äußeren Schale, verteilt nach Ursprungsregion

Unter den von der Schale isolierten mesophilen Clostridien konnte *C. perfringens* auf sieben von 147 Melonen (4,8 %) mittels kultureller Bestätigung und Messung mit MALDI-TOF MS identifiziert werden (Tab. 22; Tab. 46). Die übrigen Isolate wurden nur bis zur Gattungsebene zugeordnet.

**Tabelle 22:** *Melonen mit Wachstum von C. perfringens auf der äußeren Schale mit Angabe zur Score Value der MALDI-Messung*

Melone Nr.	Reifegrad	Herkunftsland	Score Value MALDI-TOF MS
49	3	Honduras	2.429
50	3	Honduras	2.410
73	1	Marokko	2.433
81	2	Italien	2.259
87	1	Spanien	2.465
111	1	Italien	2.254
119	3	Spanien	2.360

### 4.1.3 ESBL-bildende *Enterobacteriaceae*

#### Verdächtige ESBL-Bildner

Im Vorscreening wurden 73 potentiell resistente Mikroorganismen von den Mac+ Agarplatten isoliert (Tab. 23) und mittels MALDI-TOF MS identifiziert. Davon stammten 58 Isolate (79,5 %) von 47 Cantaloupe-Melonen-Schalen (37,0 %) und 15 Isolate (20,6 %) von neun Galia-Melonen-Schalen (45,0 %) (Tab. 47).

**Tabelle 23:** Nachgewiesene potentiell ESBL-bildende *Enterobacteriaceae* (Vorscreening)

Mikroorganismus	Anzahl der Isolate
<i>Achromobacter</i> sp.	1
<i>Acinetobacter</i> sp.	2
<i>Citrobacter</i> spp.	8
<i>Enterobacter</i> spp.	24
<i>Escherichia</i> spp.	6
<i>Klebsiella</i> spp.	22
<i>Kluyvera</i> sp.	2
<i>Raoultella</i> spp.	6
<i>Serratia</i> spp.	2
<b>Gesamt</b>	<b>73</b>

#### ESBL-resistente Mikroorganismen

Die in Tabelle 23 aufgeführten Isolate wurden in einem weiteren Untersuchungsschritt auf Brilliance™ ESBL Agar subkultiviert. Insgesamt zeigten sechs der 73 Isolate ein verdächtiges Aussehen (Blaufärbung der Kolonie). Die Isolate stammten aus den Melonen Nummer 67, 80, 97, 98, 101 und 126. Im nächsten Schritt wurden die Isolate auf eine mögliche ESBL-Bildung untersucht, indem die Resistenz gegenüber drei antimikrobiellen Wirkstoffen einzeln und in Kombination mit Clavulansäure getestet wurde.

Es handelte sich bei keinem der getesteten Isolate um ESBL-bildende Mikroorganismen. Obwohl im Einzelfall Resistenzen gegenüber den getesteten Wirkstoffen nachgewiesen werden konnten, zeigte sich keine Inhibition  $\geq 3$  log-Stufen MIC gegenüber der

Wirkstoffkombination mit Clavulansäure. Die Auswertung der Ergebnisse wurde entsprechend den Angaben des Herstellers durchgeführt.

Die Isolate zeigten eine Resistenz gegen Ceftazidim ( $\geq 32 \mu\text{g/mL}$ ) und Ceftazidim mit Clavulansäure ( $\geq 4,0 \mu\text{g/mL}$ ) sowie gegen Cefotaxim ( $\geq 16,0 \mu\text{g/mL}$ ) und Cefotaxim mit Clavulansäure ( $\geq 1,0 \mu\text{g/mL}$ ) (ohne Inhibitions-Ellipse), mit Ausnahme des Isolates aus der Melone Nr. 97. Dieses Isolat wuchs in Anwesenheit von Ceftazidim ohne Clavulansäure und Cefotaxim mit Clavulansäure bis zu einer Konzentration von  $6,0 \mu\text{g/mL}$  bzw.  $0,75 \mu\text{g/mL}$ . Keines der untersuchten Isolate erwies sich als klinisch resistent (Grenzwert  $4,0 \mu\text{g/mL}$  nach European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) 2016) gegenüber Cefepim; lediglich das Isolat aus Melone Nummer 67 zeigte Resistenz gegenüber Cefepim und Cefepim mit Clavulansäure (Tab. 24).

**Tabelle 24:** Ergebnisse des MIC Strip Tests für Resistenzen gegenüber Cefepim

Melone Nr.	Mikroorganismus	Cefepim	Cefepim +Clavulansäure
67	<i>Citrobacter freundii</i>	$4,0 \mu\text{g/mL}$	$\geq 4,0 \mu\text{g/mL}^*$
80	<i>Enterobacter cloacae</i>	$0,50 \mu\text{g/mL}$	$0,75 \mu\text{g/mL}$
97	<i>Enterobacter aerogenes</i>	$\leq 0,25 \mu\text{g/mL}$	$\leq 0,064 \mu\text{g/mL}$
98	<i>Enterobacter cloacae</i>	$1,0 \mu\text{g/mL}$	$0,75 \mu\text{g/mL}$
101	<i>Enterobacter cloacae</i>	$\leq 0,25 \mu\text{g/mL}$	$0,125 \mu\text{g/mL}$
126	<i>Enterobacter absuriae</i>	$\leq 0,25 \mu\text{g/mL}$	$\leq 0,064 \mu\text{g/mL}$

\*Keine Inhibitions-Ellipse vorhanden

## 4.2 Fruchtfleisch

Alle im Fruchtfleisch nachweisbaren Mikroorganismen wurden gezählt und soweit möglich identifiziert. Einen Gesamtüberblick über die aus dem Fruchtfleisch isolierten Mikroorganismen gibt Tabelle 49 (Anhang).

### 4.2.1 Mikrobiologischer Status

Der allgemeine mikrobiologische Status bestand, wie bei der Schale, aus den Ergebnissen folgender Untersuchungen:

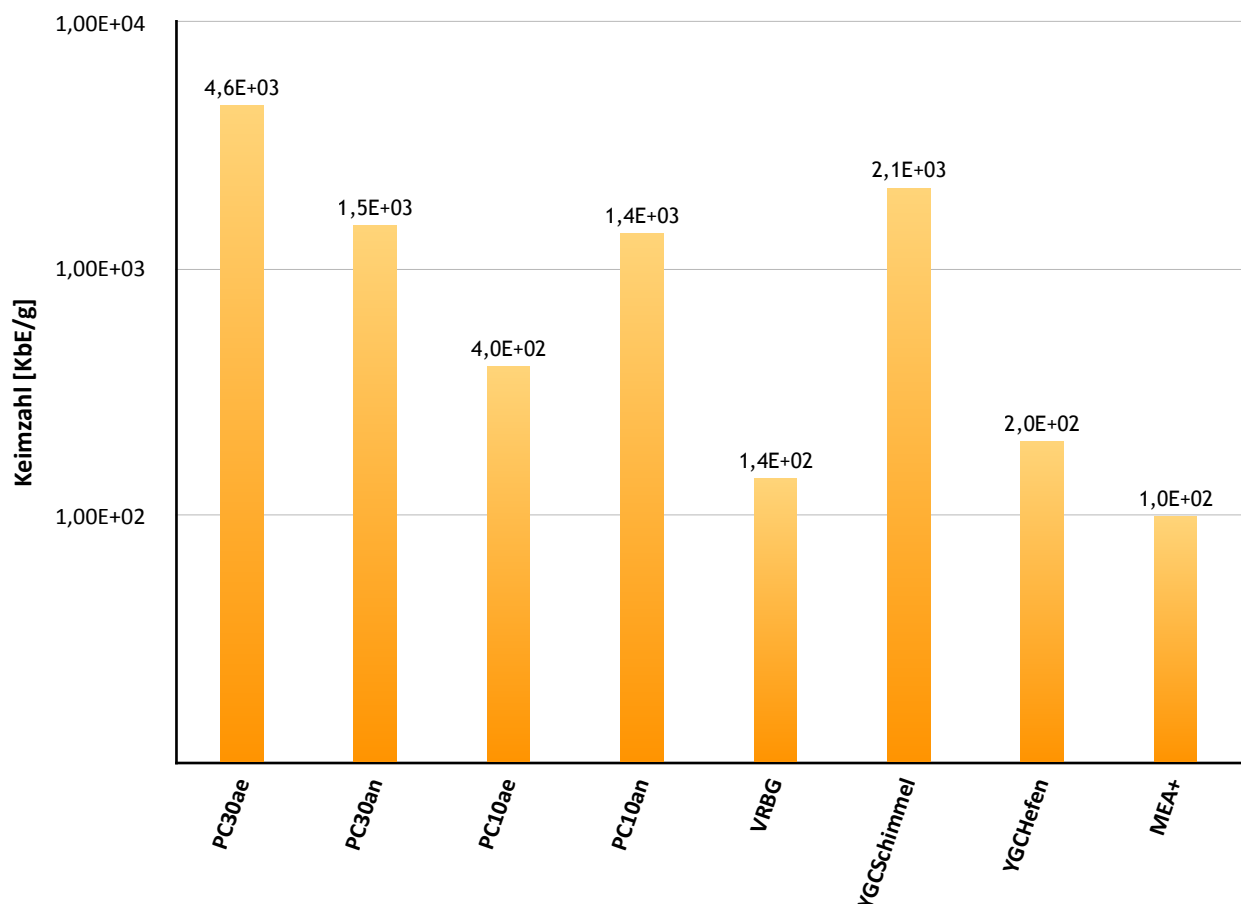
- Aerobe mesophile Keimzahl (PC30ae)
- Anaerobe mesophile Keimzahl (PC30an)
- Aerobe psychrotolerante Keimzahl (PC10ae)
- Anaerobe psychrotolerante Keimzahl (PC10an)
- *Enterobacteriaceae* (VRBG)
- Mesophile Schimmelpilze (YGCSchimmel)
- Mesophile Hefen (YGCHefen)
- Psychrotolerante Hefen (MEA+)

Die Ergebnisse wurden gegenüber den Richt- und Warnwerten der DGHM zur Beurteilung von vorgeschnittenem Obst (Tab. 4), sowie nach den Vorgaben der VO (EG) Nr. 2073/2005 beurteilt.

Insgesamt konnten in 132 Melonen (89,8 %) Mikroorganismen im Fruchtfleisch durch die Untersuchung auf mindestens einen der verschiedenen Parameter nachgewiesen werden. Bei Betrachtung der Koloniezahl aller acht untersuchten Parameter lag der Medianwert jeweils bei  $< 10^1$  KbE/g. Die maximal nachgewiesenen Keimzahlen variierten entsprechend der verschiedenen Untersuchungen (Abb. 20). Die niedrigste Koloniezahl lag bei allen untersuchten Parametern unterhalb der Nachweisgrenze von  $< 10^1$  KbE/g.

Die Koloniezahlbestimmung der aeroben mesophilen Mikroorganismen bei 30 °C (PC30ae) ergab einen Maximum-Wert von  $4,6 \times 10^3$  KbE/g diejenige der anaeroben mesophilen Keimzahl (PC30an) einen maximalen Wert von  $1,5 \times 10^3$  KbE/g. Die anaeroben psychrotoleranten Mikroorganismen bei 10 °C (PC10an) erreichten eine höhere Koloniezahl mit einem Wert von  $1,4 \times 10^3$  KbE/g als die aeroben psychrotoleranten Keime (PC10ae) ( $4,0 \times 10^2$  KbE/g). Die Untersuchung auf *Enterobacteriaceae* (VRBG) ergab einen maximalen

Wert von  $1,4 \times 10^2$  KbE/g. Andererseits zeigten die Schimmelpilze (YGCSchimmel) eine maximale Belastung von  $2,1 \times 10^3$  KbE/g, die mesophilen Hefen (YGCHefen) von  $2,0 \times 10^2$  KbE/g und die psychrotoleranten Hefen (MEA+) von  $1,0 \times 10^1$  KbE/g. Nur der Maximum-Wert der mesophilen Schimmelpilze ( $2,1 \times 10^3$  KbE/g) hatte den Richtwert der DGHM mit einer Koloniezahl von  $1,0 \times 10^3$  KbE/g überschritten. Die anderen Parameter haben weder den Warnwert, noch den Richtwert erreicht. Die Parameter des mikrobiologischen Status des Fruchtfleisches zeigten keine statistisch signifikante ( $p < 0,05$ ) Korrelation mit dem Reifegrad der Melonen.

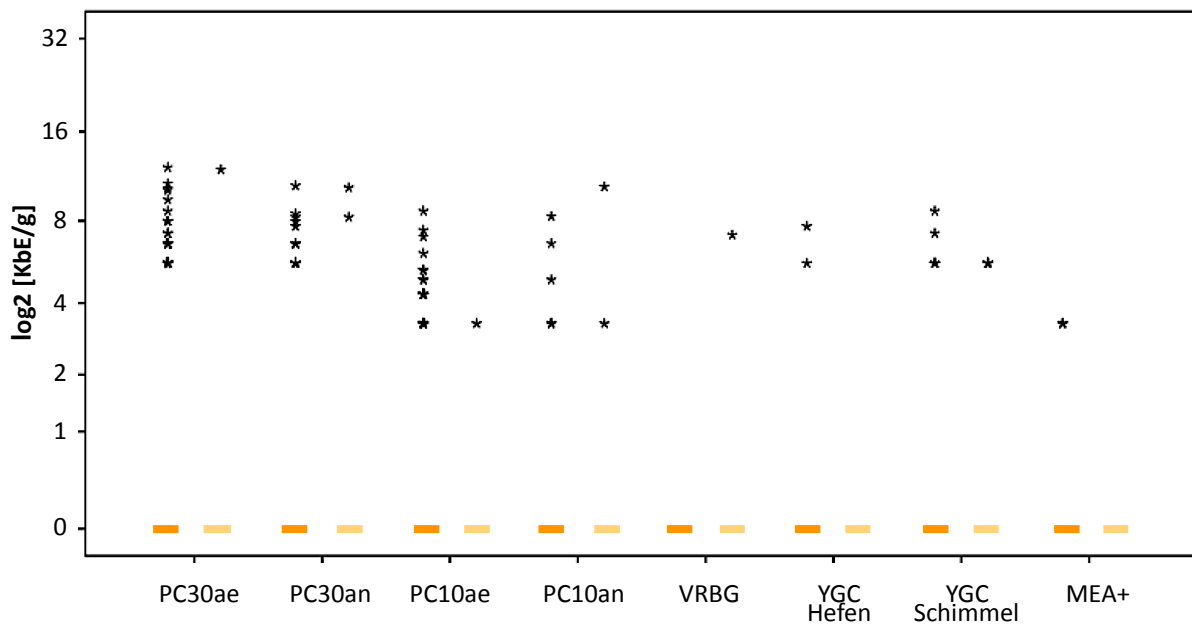


PC30aer: aerobe mesophile Keimzahl; PC30an: anaerobe mesophile Keimzahl; PC10aer: aerobe psychrotolerante Keimzahl; PC10an: anaerobe psychrotoleranten Keimzahl; VRBG: *Enterobacteriaceae*; YGCSchimmel: mesophile Schimmelpilze; YGCHefen: mesophile Hefen; MEA+: psychrotolerante Hefen

**Abbildung 20:** Höchste nachgewiesene Koloniezahlen aller Parameter des mikrobiologischen Status des Fruchtfleisches ( $n = 147$ )

### Vergleich der Melonensorten

Der statistische Vergleich zwischen den Melonensorten bei den Parametern des mikrobiologischen Status des Fruchtfleisches ergab einen signifikanten Unterschied bei dem Parameter mesophile Schimmelpilze ( $p = 0,02$ ). Cantaloupe-Melonen waren häufiger mit diesen Mikroorganismen belastet als Galia-Melonen. Die anderen Parameter zeigten keinen statistisch signifikanten Unterschied ( $p > 0,05$ ) hinsichtlich der Verteilung innerhalb der beiden Melonensorten. Jedoch ist aufgrund der wenigen positiven Daten eine belastbare Aussage nicht zu treffen.



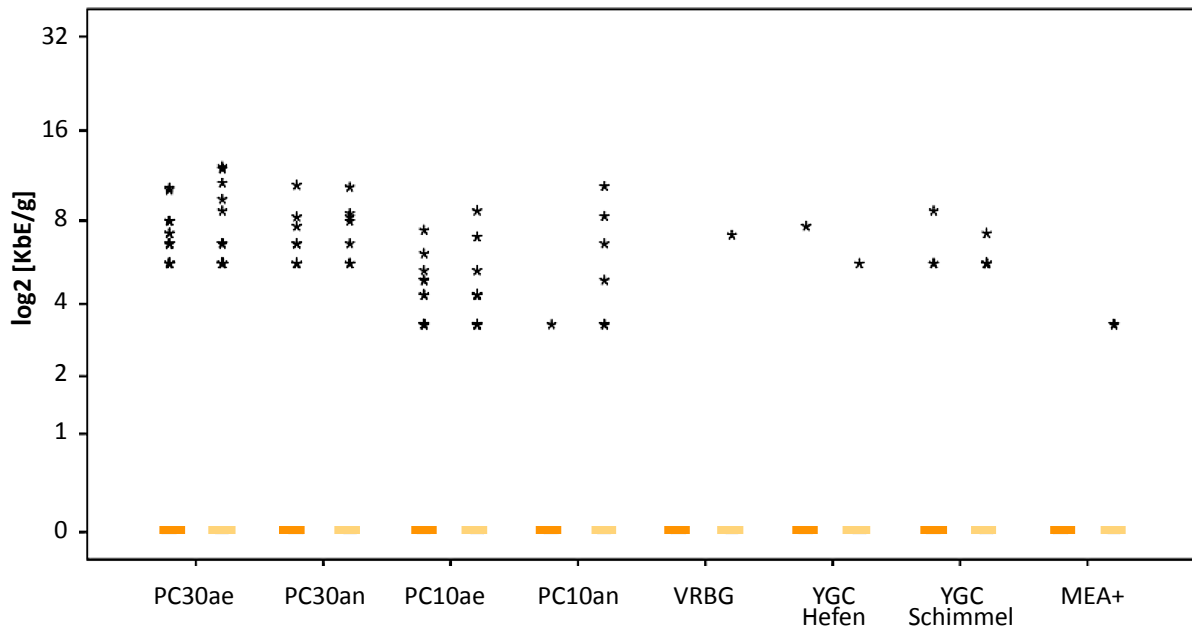
PC30aer: aerobe mesophile Keimzahl; PC30an: anaerobe mesophile Keimzahl; PC10aer: aerobe psychrotolerante Keimzahl; PC10an: anaerobe psychrotolerante Keimzahl; VRBG: *Enterobacteriaceae*; YGCSchimmel: mesophile Schimmelpilze; YGCHefen: mesophile Hefen; MEA+: psychrotolerante Hefen  
 o: Ausreißer; \*: Extreme Werte

**Abbildung 21:** Vergleichende Darstellung aller Parameter des mikrobiologischen Status des Fruchtfleisches zwischen den Melonensorten: Cantaloupe (dunkelorange, linker Boxplot je Parameter) und Galia (hellorange, rechter Boxplot je Parameter)



### Vergleich der Ursprungsregionen

Die Parameter des mikrobiologischen Status des Fruchtfleisches wurden zwischen den zwei Ursprungsregionen verglichen (Abb. 22). Keiner der acht untersuchten Parameter des mikrobiologischen Status zeigte eine statistisch signifikante Korrelation mit der Ursprungsregion ( $p > 0,05$ ).



PC30aer: aerobe mesophile Keimzahl; PC30an: anaerobe mesophile Keimzahl; PC10aer: aerobe psychrotolerante Keimzahl; PC10an: anaerobe psychrotolerante Keimzahl; VRBG: *Enterobacteriaceae*; YGCSchimmel: mesophile Schimmelpilze; YGCHefen: mesophile Hefen; MEA+: psychrotolerante Hefen  
○: Ausreißer; \*: Extreme Werte

**Abbildung 22:** Vergleichende Darstellung aller Parameter des mikrobiologischen Status des Fruchtfleisches zwischen den Ursprungsregionen: Südamerika (dunkelorange, linker Boxplot je Parameter) und Mittelmeer (hellorange, rechter Boxplot je Parameter)

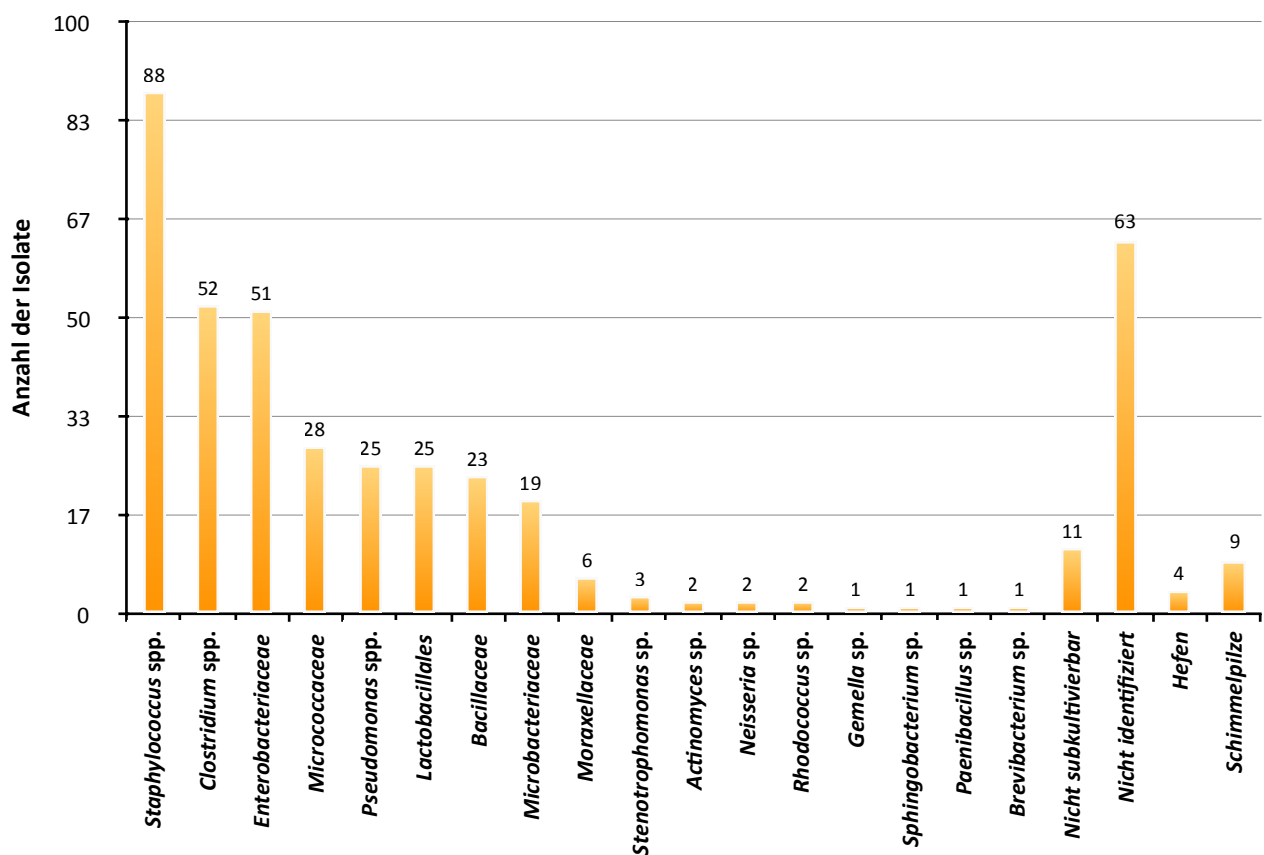
### Vergleich des mikrobiologischen Status der Schale und des Fruchtfleisches

Ein Zusammenhang zwischen der Koloniezahl der Schale und der endogenen Belastung des Fruchtfleisches wurde überprüft. Die Auswertung zeigte keine signifikante Korrelation ( $p > 0,05$ ) zwischen den Parametern des mikrobiologischen Status. Es gab somit keinen Zusammenhang zwischen der mikrobiologischen Belastung der Schale mit der des Fruchtfleisches.

#### 4.2.2 Identifizierung der Mikroorganismen

Die aus dem Fruchtfleisch isolierten Keime wurden sowohl anhand klassischer mikrobiologischer Methoden (Gramverhalten, Katalase- und Oxidase-Reaktion), MALDI TOF MS und 16S-DNA-Sequenzierung identifiziert. Potentiell pathogene Mikroorganismen, wie beispielsweise *Salmonella* spp. oder *L. monocytogenes* wurden zusätzlich gezielt angereichert und untersucht. Die Mikroorganismen, die innerhalb unselektiver Untersuchungen isoliert wurden, sind, wenn möglich, in Familien oder Gattungen eingruppiert und ausgewertet worden.

Insgesamt wurden 432 Isolate aus dem Fruchtfleisch von 132 der 147 untersuchten Melonen gewonnen. Somit waren 89,8 % der Melonen endogen kontaminiert. Es handelte sich um 304 grampositive und 104 gramnegative Bakterien. Zusätzlich konnten elf bakterielle Isolate nicht weiter subkultiviert und daher nicht identifiziert werden. Außerdem wurden auch vier Hefen und neun Schimmelpilze aus dem Fruchtfleisch isoliert. Fünzig der gewonnenen Isolate wurden aus Galia-Melonen isoliert und die restlichen 382 aus Cantaloupe-Melonen (Kapitel 11, Tabelle 49).



**Abbildung 23:** Nachgewiesene Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch aller untersuchten Melonen (n = 147), nach Gattungen oder Familien eingeteilt

Salmonella spp.

Die PCR-Untersuchung des Fruchtfleisches auf *Salmonella* spp. mittels dem Kit iQ-Check™ *Salmonella* II (Bio-Rad) ergab bei drei Cantaloupe-Melonen (2,0 % aller Melonen) mit Reifegraden eins und zwei ein positives Ergebnis (Tab. 25).

**Tabelle 25:** PCR-positive Proben der Untersuchung des Fruchtfleisches auf *Salmonella* spp.

MeloneNr.	Ursprungsland	Reifegrad	Ct-Wert (FAM)
45	Honduras	1	20,13
88	Spanien	1	25,20
93	Italien	2	19,34

Ct: Cycle threshold

Im Fruchtfleisch wurde in zwei von 147 Melonen (1,4 %) *Salmonella* spp. kulturell nachgewiesen und mit MALDI-TOF MS bzw. Sequenzierung bestätigt. Bei diesen handelte es sich nicht um die qPCR-positiven Melonen. Die Isolate stammten aus den Galia-Melonen Nummer 10 mit Reifegrad drei und 11 mit Reifegrad eins (10Ga und 11Ga), die jedoch weder auf der Schale mit *Salmonella* spp. kontaminiert waren, noch im qPCR Screening erkannt wurden. Die durch das Robert-Koch-Institut durchgeführte Serotypisierung ergab für das Isolat 10Ga das Sero var *Salmonella* Infantis (Typisierungsergebnis: 6,7:r:1,5) und für das Isolat 11Ga das Sero var *Salmonella* Choleraesuis, biochemische Variante Kunzendorf (H<sub>2</sub>S+) (Typisierungsergebnis: 6,7:c:1,5). Es konnten keine Isolate aus den *Salmonella*-qPCR-positiven Cantaloupe-Melonen gewonnen werden.

Listeria monocytogenes

Die für den Nachweis von *L. monocytogenes* durchgeführte qPCR war bei der Untersuchung des Fruchtfleisches bei vier der 147 Melonen (2,7 %) positiv (Tab. 26), dennoch sind aus molekularbiologischer Sicht diese Ergebnisse als fraglich zu bezeichnen, da Ct-Werte >35 durch unspezifische Reaktionen hervorgerufen werden können.

Durch die kulturelle Untersuchung des Fruchtfleisches konnte in keiner der Melonen-Proben *L. monocytogenes* nachgewiesen werden.

**Tabelle 26:** PCR-positive Proben der Untersuchung des Fruchtfleisches auf *L. monocytogenes*

Melone Nr.	Ursprungsland	Reifegrad	Ct-Wert (FAM)
70	Spanien	2	39,08
82	Italien	3	43,54
85	Spanien	1	35,96
105	Spanien	3	37,74

Ct: Cycle threshold

### *Escherichia coli*

Im Fruchtfleisch wurde aus einer von 147 Melonen (0,7 %) eine *E. coli* Kolonie isoliert. Die positive Probe war die Cantaloupe-Melone Nummer 60 aus Costa Rica mit einem Reifegrad von 3. Diese Melone war ebenfalls endogen mit *B. cereus* und *Pseudomonas aeruginosa* belastet. *E. coli* wurde nicht aus der Schale dieser Melone isoliert.

### Präsumtive *Bacillus cereus*

Präsumtive *Bacillus cereus* konnten in sieben von 147 Cantaloupe-Melonen (4,7 %) nachgewiesen werden (Tab. 27). Die Melonen stammten sowohl aus der Mittelmeer-Region als auch aus Südamerika und umfassten alle drei Reifegrade.

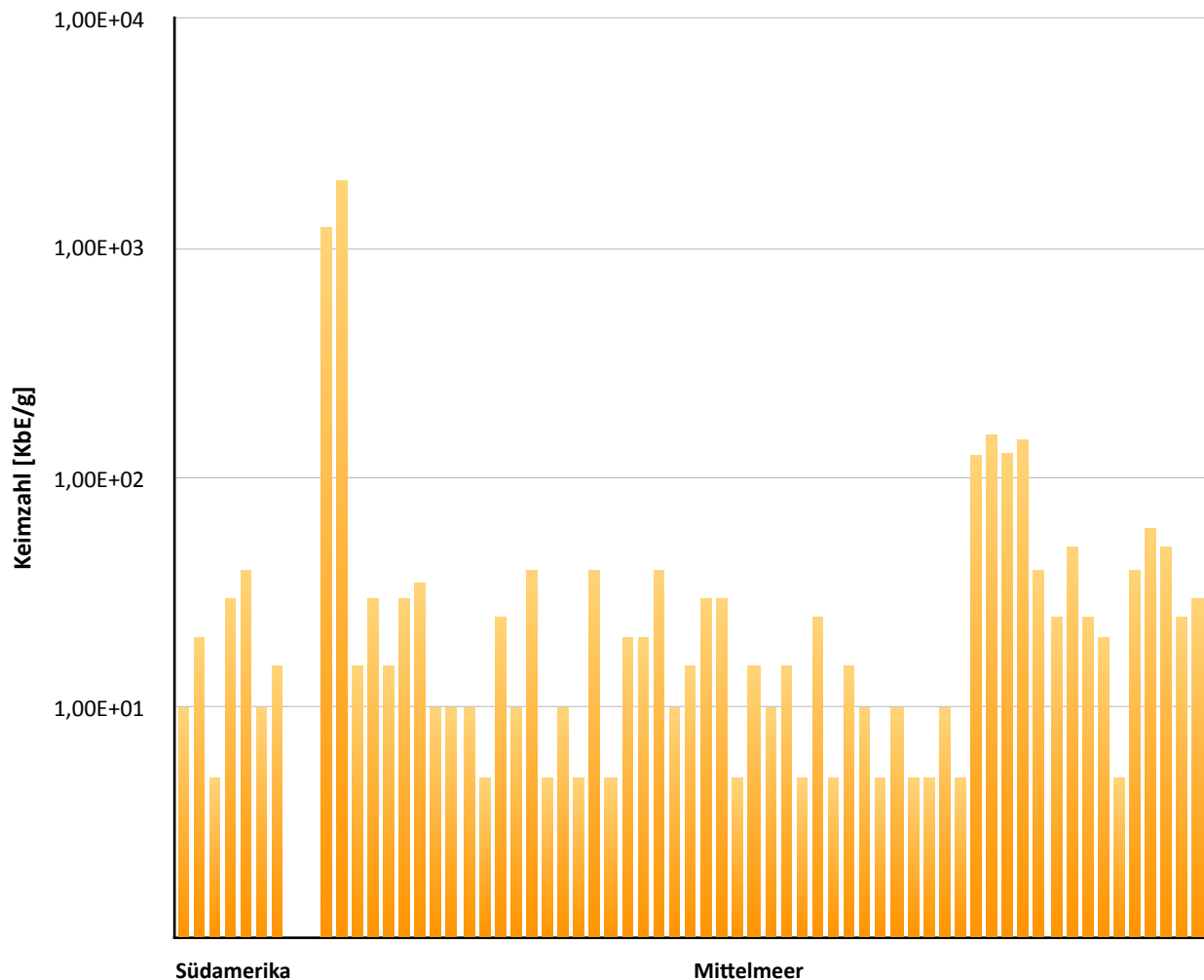
**Tabelle 27:** Nachgewiesene *B. cereus* aus dem Fruchtfleisch von sieben positiven Melonen

Melone Nr.	Reifegrad	Ursprungsland	Methode	Score Value MALDI-TOF MS
1-4*	1 und 2	Brasilien	Kultur + MALDI-TOF MS	2.121
31	2	Brasilien	Kultur + MALDI-TOF MS	2.458
58	3	Costa Rica	Kultur + MALDI-TOF MS	2.091
60	3	Costa Rica	Kultur	< 2.000
93	2	Italien	Kultur	< 2.000
103	3	Spanien	Kultur	< 2.000
107	2	Spanien	Kultur	< 2.000

\* Pool-Probe

### Mesophile sulfitreduzierende Clostridien

Die Untersuchung des Fruchtfleisches auf mesophile Clostridien war bei 63 von 147 Melonen (42,9 %) positiv. *Clostridium* spp. wurde aus sieben von 20 Galia-Melonen isoliert (35,0 %) und aus 56 von 127 Cantaloupe-Melonen (44,1 %) (Abb. 24; Tab. 48). Die Keimzahl lag zwischen 5,0 und  $1,9 \times 10^3$  KbE/g und der Medianwert bei  $< 10^1$  KbE/g.



**Abbildung 24:** Belastung der mit sulfitreduzierenden mesophilen Clostridien im Fruchtfleisch kontaminierten Melonen

Es wurde eine signifikante Korrelation mit der Ursprungsregion der Melonen festgestellt. Mit einer Signifikanz von  $p = 0,00$  waren die Melonen aus der Region Mittelmeer häufiger mit Clostridien belastet (74,3 %) als die aus Südamerika (6,8 %). Kein signifikanter Zusammenhang wurde mit dem Reifegrad ( $p = 0,10$ ) oder der Melonensorte ( $p = 0,86$ ) festgestellt.

Es konnten insgesamt 67 Isolate der Gattung *Clostridium* spp. nachgewiesen werden. Die Cantaloupe-Melonen Nummer 86, 94, 166 und 127 waren mit zwei verschiedenen *Clostridium* spp. belastet. Mikroorganismen aus drei verschiedenen Spezies konnten aus dem Fruchtfleisch identifiziert werden. *Clostridium subterminale* wurde am häufigsten isoliert (62,7 % der gefundenen *Clostridium*-Isolate), gefolgt von *Clostridium sordellii* (14,9 %) (Tab. 28). Bei keiner der untersuchten Melonen konnte aus dem Fruchtfleisch *C. perfringens* nachgewiesen werden. Die Isolate, die nachfolgend auf Gattungsebene beschrieben wurden, konnten nicht weiter differenziert werden.

**Tabelle 28:** Nachgewiesene sulfitreduzierende mesophile Clostridien aus dem Fruchtfleisch von 63 positiven Melonen

Mikroorganismus	Anzahl der Isolate	Anteil der Isolate
<i>Clostridium subterminale</i>	42	62,7 %
<i>Clostridium</i> spp.	14	20,9 %
<i>Clostridium sordellii</i>	10	14,9 %
<i>Clostridium tertium</i>	1	1,5 %
<b>Gesamt Isolate</b>	<b>67</b>	<b>100 %</b>

#### *Staphylococcus* spp.

Die Mikroorganismen dieser Gattung waren im Vergleich mit den anderen nachgewiesenen Gattungen und Familien am häufigsten im Fruchtfleisch der Melonen zu finden. *Staphylococcus* spp. wurden in 50,3 % der Melonen nachgewiesen (74 von 147). Cantaloupe-Melonen waren in 49,6 % (63 von 127) der Fälle belastet und Galia-Melonen in 55,0 % (11 von 20). Hinsichtlich der Präsenz von Staphylokokken in den beiden Melonensorten gab es keine signifikanten Unterschied ( $p = 0,84$ ). Es gab ebenfalls keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Nachweis von Staphylokokken und der Ursprungsregion ( $p = 0,43$ ) oder dem Reifegrad ( $p = 0,97$ ).

Insgesamt wurden 88 *Staphylococcus*-Isolate gefunden, die zehn verschiedenen *Staphylococcus* Spezies zugeordnet werden konnten. Zwei der 88 Isolate konnten nur auf Gattungsebene differenziert werden. Auf zwölf Melonen wurden gleichzeitig Staphylokokken zwei verschiedener Spezies und auf einer Melone wurden drei Spezies nachgewiesen (Tab. 29).

**Tabelle 29:** Nachgewiesene *Staphylococcus* spp. aus dem Fruchtfleisch von 74 positiven Melonen

Mikroorganismus	Anzahl der Isolate	Anteil der Isolate
<i>Staphylococcus</i> spp.	2	2,3 %
<i>Staphylococcus sciuri</i>	27	30,7 %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	22	25,0 %
<i>Staphylococcus hominis</i>	12	13,5 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	8,0 %
<i>Staphylococcus succinus</i>	7	8,0 %
<i>Staphylococcus warneri</i>	4	4,5 %
<i>Staphylococcus capitis</i>	2	2,3 %
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	2,3 %
<i>Staphylococcus xylosus</i>	2	2,3 %
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	1,1 %
<b>Gesamt Isolate</b>	<b>88</b>	<b>100,0 %</b>

### Enterobacteriaceae

Nach *Staphylococcaceae* und *Clostridiaceae* sind *Enterobacteriaceae* die dritthäufigste Familie, die im Fruchtfleisch nachgewiesen wurde. Sie waren in 27,9 % aller Melonen vorhanden (41 von 147): 30,0 % der Galia-Melonen (6 von 20) und 27,6 % der Cantaloupe-Melonen (35 von 127) waren mit *Enterobacteriaceae* kontaminiert. Es wurden 51 *Enterobacteriaceae*-Isolate aus 8 verschiedenen Gattungen und insgesamt 15 verschiedenen Spezies identifiziert (Tab. 30). Die Isolate, die auf Gattungsebene beschrieben wurden, konnten nicht weiter identifiziert werden. Aus mehreren Melonen wurden mehr als eine *Enterobacteriaceae* isoliert. Bei den *Enterobacteriaceae* aus dem Fruchtfleisch konnte kein statistischer Zusammenhang zwischen der Belastung des Fruchtfleisches mit diesen Mikroorganismen und der Melonensorte ( $p = 0,90$ ), der Ursprungsregion ( $p = 0,93$ ) oder dem Reifegrad ( $p = 0,55$ ) nachgewiesen werden.

**Tabelle 30:** Nachgewiesene *Enterobacteriaceae* aus dem Fruchtfleisch von 41 positiven Melonen

Mikroorganismus	Anzahl der Isolate	Anteil der Isolate
<i>Enterobacteriaceae</i>	2	3,9 %
<i>Citrobacter farmeri</i>	2	3,9 %

Mikroorganismus	Anzahl der Isolate	Anteil der Isolate
<i>Enterobacter absuriae</i>	1	1,9 %
<i>Enterobacter cloacae</i>	7	13,7 %
<i>Enterobacter kobei</i>	2	3,9 %
<i>Erwinia persicina</i>	3	5,9 %
<i>Escherichia coli</i>	1	2,0 %
<i>Pantoea</i> spp.	2	3,9 %
<i>Pantoea agglomerans</i>	14	27,5 %
<i>Pantoea ananatis</i>	1	2,0 %
<i>Pantoea dispersa</i>	2	3,9 %
<i>Pentobacterium carotovorum</i>	1	2,0 %
<i>Salmonella</i> Cholerasuis	1	2,0 %
<i>Salmonella</i> Infantis	1	2,0 %
<i>Serratia ficaria</i>	1	2,0 %
<i>Serratia liquefaciens</i>	6	11,7 %
<i>Serratia marcescens</i>	4	7,8 %
<b>Gesamt Isolate</b>	<b>51</b>	<b>100,0 %</b>

### Micrococcaceae

In 17,0 % der Melonen (25 von 147) wurden Mikroorganismen aus der Familie *Micrococcaceae* (*Staphylococcus* spp. nicht mitgerechnet) gefunden. Diese Mikroorganismen waren hauptsächlich in den Cantaloupe-Melonen (16,3 %; 24 von 127) zu finden (1 von 20 Galia-Melonen; 5,0 %), jedoch ohne statistisch signifikantem Unterschied ( $p = 0,56$ ) zwischen den zwei Sorten. Auch mit der Ursprungsregion ( $p = 0,14$ ) wurde kein signifikanter Zusammenhang festgestellt.

Die Isolate gehören vier verschiedenen Gattungen an. *Micrococcus luteus* ist am häufigsten isoliert worden (46,4 % der *Micrococcaceae*-Isolate) (Tab. 31). Die auf Gattungsebene beschriebenen Isolate konnten nicht weiter identifiziert werden. Bei mehreren Melonen wurde mehr als ein Isolat gefunden.



**Tabelle 31:** Nachgewiesene *Micrococcaceae* aus dem Fruchtfleisch von 25 positiven Melonen

Mikroorganismus	Anzahl der Isolate	Anteil der Isolate
<i>Arthrobacter</i> spp.	2	7,1 %
<i>Arthrobacter arilaitensis</i>	1	3,6 %
<i>Arthrobacter casterllii</i>	2	7,1 %
<i>Athrobacter oxydans</i>	1	3,6 %
<i>Kocuria carniphila</i>	3	10,7 %
<i>Kocuria palustris</i>	1	3,6 %
<i>Micrococcus</i> sp.	1	3,6 %
<i>Micrococcus luteus</i>	13	46,4 %
<i>Rothia aerea</i>	1	3,6 %
<i>Rothia dentocariosa</i>	3	10,7 %
<b>Gesamt Isolate</b>	<b>28</b>	<b>100,0 %</b>

In der statistischen Auswertung zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der Präsenz von Mikroorganismen der Familie *Micrococcaceae* und dem Reifegrad der Melonen. Mit einer Signifikanz von  $p = 0,04$  waren unreife Melonen (Reifegrad 1 bis 2) öfter mit diesen Mikroorganismen belastet (30,8 %) als reife (11,3 %) und überreife (10,8 %) Melonen.

### *Bacillaceae*

Mikroorganismen dieser Familie wurden in 14,9 % der Melonen (22 von 147) identifiziert. Cantaloupe-Melonen waren in 14,2 % der Fälle (18 von 127) betroffen und Galia-Melonen in 20,0 % (vier von 20). Es handelt sich hauptsächlich um Keime der Gattung *Bacillus* spp. (Tab. 32). Die auf Gattungsebene beschriebenen Keime konnten nicht weiter identifiziert werden. In der Cantaloupe-Melone Nummer 31 mit Reifegrad 2 aus Brasilien wurden zwei unterschiedliche *Bacillus* spp. nachgewiesen.

Es konnte keine statistisch signifikante Korrelation der Belastung mit Mikroorganismen dieser Familie und dem Reifegrad ( $p = 1,00$ ), der Ursprungsregion ( $p = 1,00$ ) und der Melonensorte ( $p = 0,62$ ) festgestellt werden.

**Tabelle 32:** Nachgewiesene Bacillaceae aus dem Fruchtfleisch von 22 positiven Melonen

Mikroorganismus	Anzahl der Isolate	Anteil der Isolate
<i>Bacillus</i> spp.	7	30,4 %
<i>Bacillus cereus</i> Gruppe	7	30,4 %
<i>Bacillus licheniformis</i>	3	13,0 %
<i>Bacillus pumilus</i>	2	8,7 %
<i>Bacillus simplex</i>	1	4,4 %
<i>Bacillus subtilis</i>	2	8,7 %
<i>Psychrobacillus psychrodurans</i>	1	4,4 %
<b>Gesamt Isolate</b>	<b>23</b>	<b>100,0 %</b>

*Pseudomonas* spp.

Die Gattung *Pseudomonas* spp. wurde in 18 der untersuchten Melonen gefunden (12,3 %). In Cantaloupe-Melonen fand man diese Gattung in 12,3 % der Melonen (16 von 127) und in Galia-Melonen in 10,0 % der Melonen (2 von 20).

Es wurden insgesamt 25 Isolate aus elf verschiedenen Spezies dieser Gattung identifiziert (Tab. 33). In den Cantaloupe-Melonen Nummer 50 und 51, beide aus Honduras und von Reifegrad 3, wurden vier bzw. fünf verschiedene *Pseudomonas* spp. isoliert. Nach der statistischen Auswertung zeigte das Vorhandensein von *Pseudomonas* spp. weder eine Korrelation mit dem Reifegrad ( $p = 0,26$ ), noch mit der Ursprungsregion ( $p = 0,92$ ) oder der Melonensorte ( $p = 0,49$ ).

**Tabelle 33:** Nachgewiesene *Pseudomonas* spp. aus dem Fruchtfleisch von 18 positiven Melonen

Mikroorganismus	Anzahl der Isolate	Anteil der Isolate
<i>Pseudomonas</i> sp.	1	4,0 %
<i>Pseudomonas abietanophila</i>	1	4,0 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	4,0 %
<i>Pseudomonas antarctica</i>	1	4,0 %
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	4	16,0 %
<i>Pseudomonas flavescens</i>	1	4,0 %
<i>Pseudomonas fulva</i>	3	12,0 %
<i>Pseudomonas graminis</i>	2	8,0 %
<i>Pseudomonas koreensis</i>	4	16,0 %
<i>Pseudomonas monteillii</i>	5	20,0 %
<i>Pseudomonas straminea</i>	1	4,0 %
<i>Pseudomonas thevervalensis</i>	1	4,0 %
<b>Gesamt Isolate</b>	<b>25</b>	<b>100,0 %</b>

#### 4.2.2.11 Nicht identifizierbare Bakterien

Eine detaillierte Auflistung der mit den bisher geschilderten Methoden nicht identifizierten Mikroorganismen befindet sich im Anhang, Tabelle 49. Die Isolate wurden entsprechend ihrer Reaktionen im Katalase-/Oxidase-Test sowie ihres Gramverhaltens eingeteilt (Tab. 34). Von den nicht identifizierten Mikroorganismen im Fruchtfleisch der Melonen zeigten 31 Isolate ein positives Gramverhalten und eine positive Katalasereaktion. Sie wurden nicht weiter identifiziert. Diese Keime stammen aus 27 Melonen (18,4 %), von denen 18,9 % aus Cantaloupe-Melonen (24 von 127) und 15,0 % aus Galia-Melonen (3 von 20) isoliert wurden.

Nur ein grampositives Stäbchen mit negativer Katalase-Reaktion aus der Cantaloupe-Melone Nummer 106 konnte nicht weiter identifiziert werden. Insgesamt wurden elf grampositive und Katalase-positive Kokken in neun Melonen nachgewiesen (6,1 %), in acht Cantaloupe-Melonen (6,3 %) und eine Galia-Melone (5,0 %). Des Weiteren wurden in drei Cantaloupe-Melonen drei grampositive Kokken mit negativer Katalase-Reaktion nachgewiesen.

Bei den Bakterien mit negativem Gramverhalten wurden insgesamt 17 Stäbchenbakterien mit Oxidase-negativer Reaktion aus 17 Melonen (11,6 %) isoliert. Davon stammten 15 Isolate

aus Cantaloupe-Melonen (11,8 %) und zwei Isolate aus Galia-Melonen (10,0 %). Unter den gramnegativen Kokken mit negativer Oxidase-Reaktion wurde nur ein Isolat aus der Cantaloupe-Melone Nummer 81 nicht weiter identifiziert.

Elf Isolate aus zehn Melonen (9 Cantaloupe- und 1 Galia-Melone) konnten nicht weiter subkultiviert werden, da sie nach erstmaliger Anzucht nicht weiter subkultivierbar waren und damit auch nicht identifiziert oder anderweitig eingeteilt wurden.

**Tabelle 34:** Nicht identifizierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch, eingeteilt nach Melonensorte

Beschreibung	Belastete Cantaloupe	Isolate aus Cantaloupe	Belastete Galia	Isolate aus Galia
Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv	24	28	3	3
Grampositive Stäbchen, Katalase-negativ	1	1	0	0
Grampositive Kokken, Katalase-positiv	8	10	1	1
Grampositive Kokken, Katalase-negativ	3	3	0	0
Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negativ	15	15	2	2
Gramnegative Kokken, Oxidase-negativ	1	1	0	0
Nicht subkultivierbare Mikroorganismen	9	10	1	1
<b>Gesamt</b>	<b>61</b>	<b>68</b>	<b>7</b>	<b>7</b>

#### Mesophile und psychrotolerante Hefen

Mesophile Hefen (YGCHefen) wurden aus dem Fruchtfleisch von zwei Cantaloupe-Melonen isoliert: Melone Nr. 24 aus Brasilien mit Reifegrad 2 und einer Belastung von  $2,0 \times 10^2$  KbE/g und Melone Nr. 74 aus Marokko mit Reifegrad 1 und einer Belastung von 5,0 KbE/g. Beide Isolate konnten nach der ersten Anzucht nicht weiter subkultiviert und daher nicht weiter identifiziert werden.

In der Untersuchung auf psychrotolerante Hefen (auf MEA+) wurden zwei Isolate der Gattung *Rhodotorula* spp. nachgewiesen. Diese Hefen wurden aus den Cantaloupe-Melonen Nummer 85 und 86 isoliert, beide mit einer Belastung von 1,0 KbE/g. Beide Melonen stammten aus Spanien und hatten einen Reifegrad von 1.

### Mesophile Schimmelpilze

Schimmelpilze wurden in neun Melonen (6,1 %) nachgewiesen, davon vier in Galia-Melonen (20,0 %) und fünf in Cantaloupe-Melonen (3,4 %) mit einer Belastung zwischen 5,0 und  $4,0 \times 10^2$  KbE/g. Die Isolate wurden als Mycelium sterile (ein Isolat), *Penicillium* sp. (ein Isolat), *Geotrichum candidum* (ein Isolat), *Rhizopus* sp. (ein Isolat) und *Fusarium* spp. (fünf Isolate) identifiziert. Das Fruchtfleisch der Galia-Melonen war ausschließlich mit Schimmelpilzen der Gattung *Fusarium* spp. (4 Isolate) belastet, während die anderen Gattungen in Cantaloupe-Melonen nachgewiesen wurden (Tab. 35). Melonen aller Reifegrade waren mit Schimmelpilze belastet.

**Tabelle 35:** Nachgewiesene Schimmelpilze aus dem Fruchtfleisch von neun positiven Melonen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Reifegrad	Herkunftsland
5	Mycelium sterile	2	Brasilien
8	<i>Penicillium</i> sp.	3	Brasilien
24	<i>Geotrichum candidum</i>	2	Brasilien
115	<i>Rhizopus</i> sp.	3	Spanien
125	<i>Fusarium</i> sp.	3	Spanien
17Ga	<i>Fusarium</i> sp.	2	Italien
18Ga	<i>Fusarium</i> sp.	2	Italien
19Ga	<i>Fusarium</i> sp.	2	Italien
20Ga	<i>Fusarium</i> sp.	1	Italien

### 4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Schalen der untersuchten Melonen waren zu 100 % mit Mikroorganismen kontaminiert mit maximalen Koloniezahlen bis zu  $8,4 \times 10^8$  KbE/g. Die Medianwerte der verschiedenen Parameter des mikrobiologischen Status lagen zwischen  $7,8 \times 10^3$  KbE/g und  $3,8 \times 10^6$  KbE/g. Die Keimzahlen des mikrobiologischen Status der Schale zeigten keinen statistischen Zusammenhang mit den Melonensorten. Dagegen war die Belastung von Cantaloupe-Melonen mit *B. cereus* signifikant häufiger ( $p = 0,01$ ) als diejenige von Galia-Melonen.

Die Parameter aerobe und anaerobe mesophile Keimzahl, aerobe und anaerobe psychrotolerante Keimzahl und mesophile Schimmelpilze waren signifikant ( $p > 0,05$ ) höher in Melonen aus der Mittelmeer-Region. Mesophile Clostridien waren signifikant häufiger ( $p = 0,00$ ) auf Melonen aus der Mittelmeer-Region als auf Melonen der Region Südamerika nachzuweisen.

Das Fruchtfleisch der untersuchten Melonen war zu 89,8 % kontaminiert, wobei die Keimbelastung gering war. Der Maximalwert der Koloniezahlbestimmung lag bei  $4,6 \times 10^3$  KbE/g. Der Medianwert aller Parameter des mikrobiologischen Status lag bei  $< 10^1$  KbE/g. Mesophile Schimmelpilze waren signifikant häufiger ( $p = 0,02$ ) in Cantaloupe-Melonen als in Galia-Melonen nachzuweisen.

Übereinstimmend konnte jeweils ein statistisch nachweisbarer Zusammenhang bei der Bestimmung der mesophilen Clostridien gezeigt werden ( $p = 0,00$ ), die sowohl auf der Schale als auch im Fruchtfleisch häufiger aus Melonen der Mittelmeer-Region isoliert werden konnten. Weder ein Zusammenhang der Kontamination des Fruchtfleisches mit der Belastung der Schale noch mit dem Reifegrad der Melonen konnte festgestellt werden.

Insgesamt wurden 432 Isolate aus dem Fruchtfleisch nachgewiesen (Tab. 36), von denen viele als opportunistische Krankheitserreger auftreten können. Die am häufigsten identifizierten Gattungen waren *Staphylococcus* spp. und *Clostridium* spp., gefolgt von der Familie *Enterobacteriaceae*. 70,4 % der Mikroorganismen waren grampositive Bakterien. Zusätzlich wurden vier Hefe- und neun Schimmelpilze-Isolate im Fruchtfleisch nachgewiesen. 63 bakterielle Isolate konnten nicht vollständig identifiziert werden und elf bakterielle Isolate waren nicht subkultivierbar (Abb. 25 und 26).

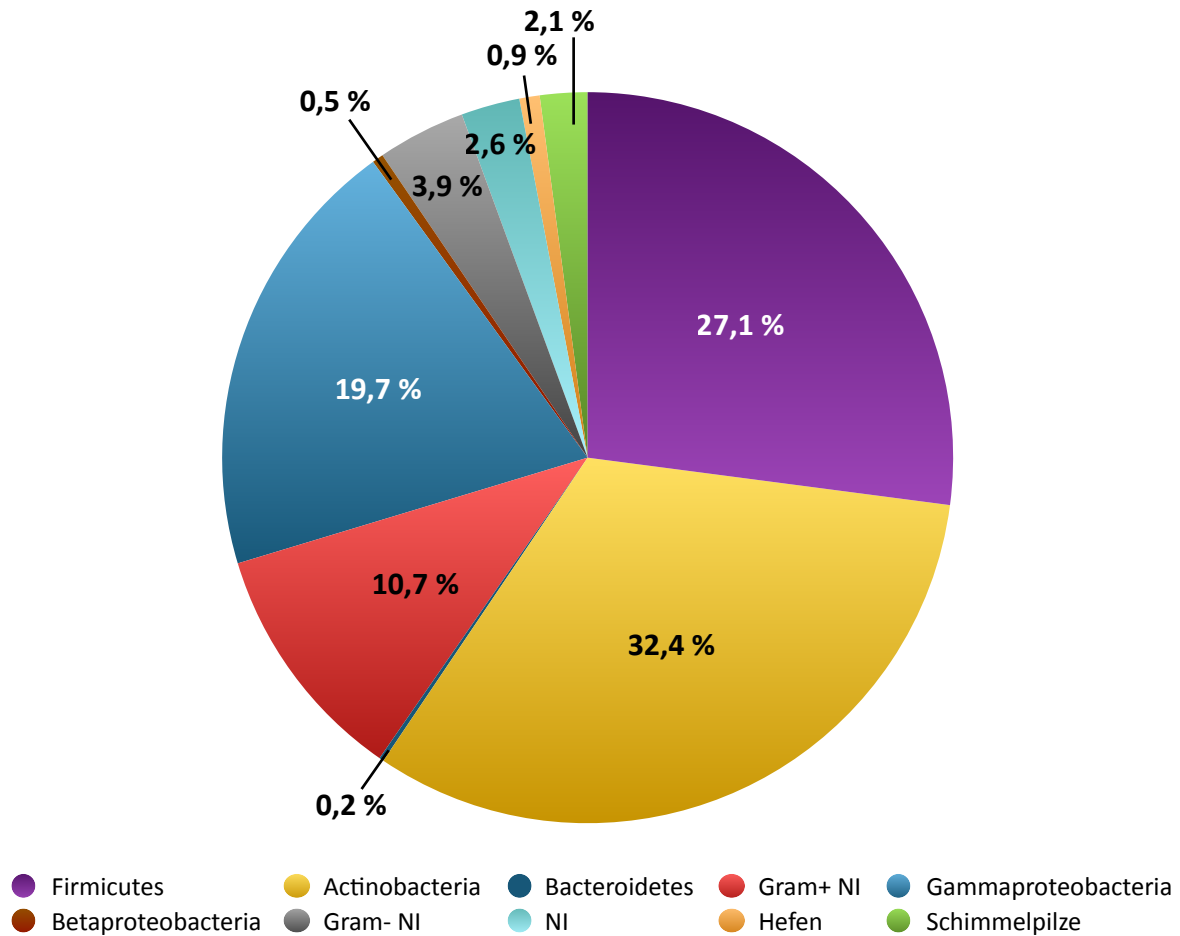
**Tabelle 36:** Zusammenfassung aller aus dem Fruchtfleisch isolierten Mikroorganismen, nach deren Systematik eingeteilt

<b>Grampositive Bakterien</b>	<b>Anzahl der Isolate</b>	<b>Anteil der Isolate</b>
Katalase-positive Säbchen / Nicht identifiziert	<b>31</b>	<b>7,18 %</b>
Katalase-negative Stäbchen/ Nicht identifiziert	<b>1</b>	<b>0,23 %</b>
Katalase-positive Kokken/ Nicht identifiziert	<b>11</b>	<b>2,55 %</b>
Katalase-negative Kokken/ Nicht identifiziert	<b>3</b>	<b>0,69 %</b>
<b>Firmicutes</b>	<b>117</b>	<b>27,08 %</b>
Bacilli - Bacillales		
<i>Bacillaceae</i> - <i>Bacillus</i> spp.	22	5,09 %
- <i>Psychrobacillus</i> sp.	1	0,23 %
<i>Gemella</i> sp.	1	0,23 %
<i>Paenibacillaceae</i> - <i>Paenibacillus</i> sp.	1	0,23 %
Lactobacillales (Milchsäurebakterien)		
<i>Enterococcaceae</i> - <i>Enterococcus</i> spp.	5	1,16 %
<i>Leuconostocaceae</i> - <i>Leuconostoc</i> spp.	4	0,93 %
<i>Streptococcaceae</i> - <i>Streptococcus</i> spp.	16	3,70 %
Clostridia - Clostridiales - <i>Clostridiaceae</i> - <i>Clostridium</i> spp.	67	15,51 %
<b>Actinobacteria - Actinobacteria - Actinomycetales</b>	<b>140</b>	<b>32,42 %</b>
Actinomycineae - <i>Actinomycetaceae</i> - <i>Actinomyces</i> sp.	2	0,46 %
Corynebacterianeae - <i>Nocardiaceae</i> - <i>Rhodococcus</i> spp.	2	0,46 %
Micrococcineae		
<i>Micrococcaceae</i> - <i>Arthrobacter</i> spp.	6	1,39 %
<i>Kocuria</i> spp.	4	0,93 %
<i>Micrococcus</i> spp.	14	3,24 %
<i>Rothia</i> spp.	4	0,93 %
<i>Staphylococcus</i> spp.	88	20,37 %
<i>Brevibacteriaceae</i> - <i>Brevibacterium</i> sp.	1	0,23 %
<i>Microbacteriaceae</i>		
<i>Agrococcus</i> sp.	1	0,23 %
<i>Curtobacterium</i> sp.	1	0,23 %
<i>Microbacterium</i> spp.	17	3,94 %
<b>Bacteroidetes</b>	<b>1</b>	<b>0,23 %</b>
Sphingobacteria- Sphingobacteriales <i>Sphingobacteriaceae</i> <i>Sphingobacterium</i> sp.	1	0,23 %

**Fortsetzung Tabelle 36:** Zusammenfassung aller vom Fruchtfleisch isolierten Mikroorganismen, nach deren Systematik eingeteilt

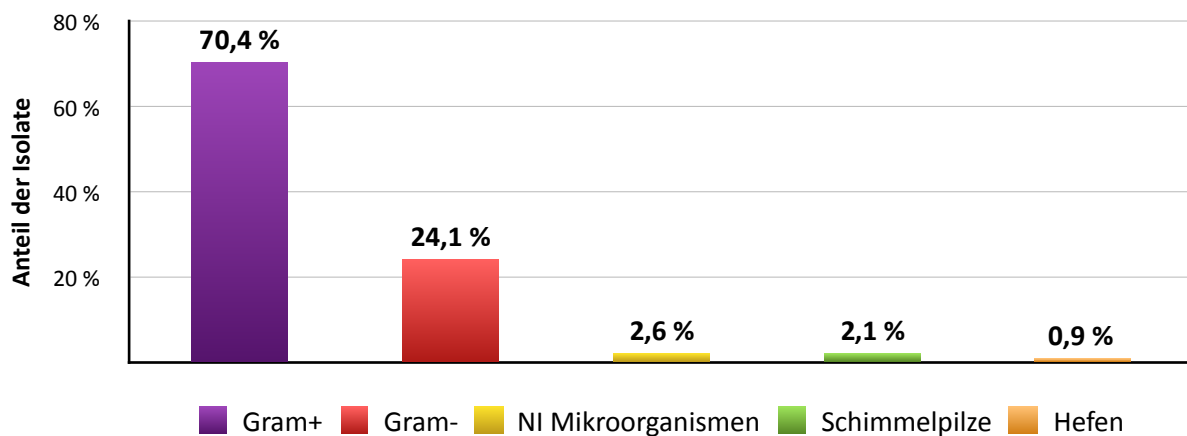
Gramnegative Bakterien	Anzahl der Isolate	Anteil der Isolate
Oxidase-negative Stäbchen / Nicht identifiziert	16	3,70 %
Oxidase-negative Kokken/ Nicht identifiziert	1	0,23 %
<b><math>\gamma</math>-Proteobacteria</b>	<b>85</b>	<b>19,68 %</b>
<b>Enterobacteriales - Enterobacteriaceae</b>	2	0,46 %
<i>Citrobacter</i> spp.	2	0,46 %
<i>Enterobacter</i> spp.	10	2,32 %
<i>Erwinia</i> spp.	3	0,69 %
<i>Escherichia</i> sp.	1	0,23 %
<i>Pantoea</i> spp.	19	4,40 %
<i>Pectobacterium</i> sp.	1	0,23 %
<i>Salmonella</i> spp.	2	0,46 %
<i>Serratia</i> spp.	11	2,55 %
<b>Xanthomonadales-Xanthomonadaceae</b>		
<i>Stenotrophomonas</i> spp.	3	0,69 %
<b>Pseudomonadales</b>		
<i>Moraxellaceae - Acinetobacter</i> spp.	5	1,16 %
- <i>Psychrobacter</i> sp.	1	0,23 %
<i>Pseudomonadaceae - Pseudomonas</i> spp.	25	5,79 %
<b><math>\beta</math>-Proteobacteria - Neisseriales - Neisseriaceae - Neisseria spp.</b>	<b>2</b>	<b>0,46 %</b>
Nicht subkultivierbare Bakterien	11	2,55 %
<b>Hefen</b>	<b>4</b>	<b>0,92 %</b>
Mesophile Hefen - Nicht subkultivierbar	2	0,46 %
<i>Rhodotorula</i> spp.	2	0,46 %
<b>Schimmelpilze</b>	<b>9</b>	<b>2,08 %</b>
<i>Geotrichum candidum</i>	1	0,23 %
Mycelium sterile	1	0,23 %
<i>Penicillium</i> sp.	1	0,23 %
<i>Fusarium</i> spp.	5	1,16 %
<i>Rhizopus</i> sp.	1	0,23 %
<b>Gesamt Isolate</b>	<b>432</b>	<b>100 %</b>





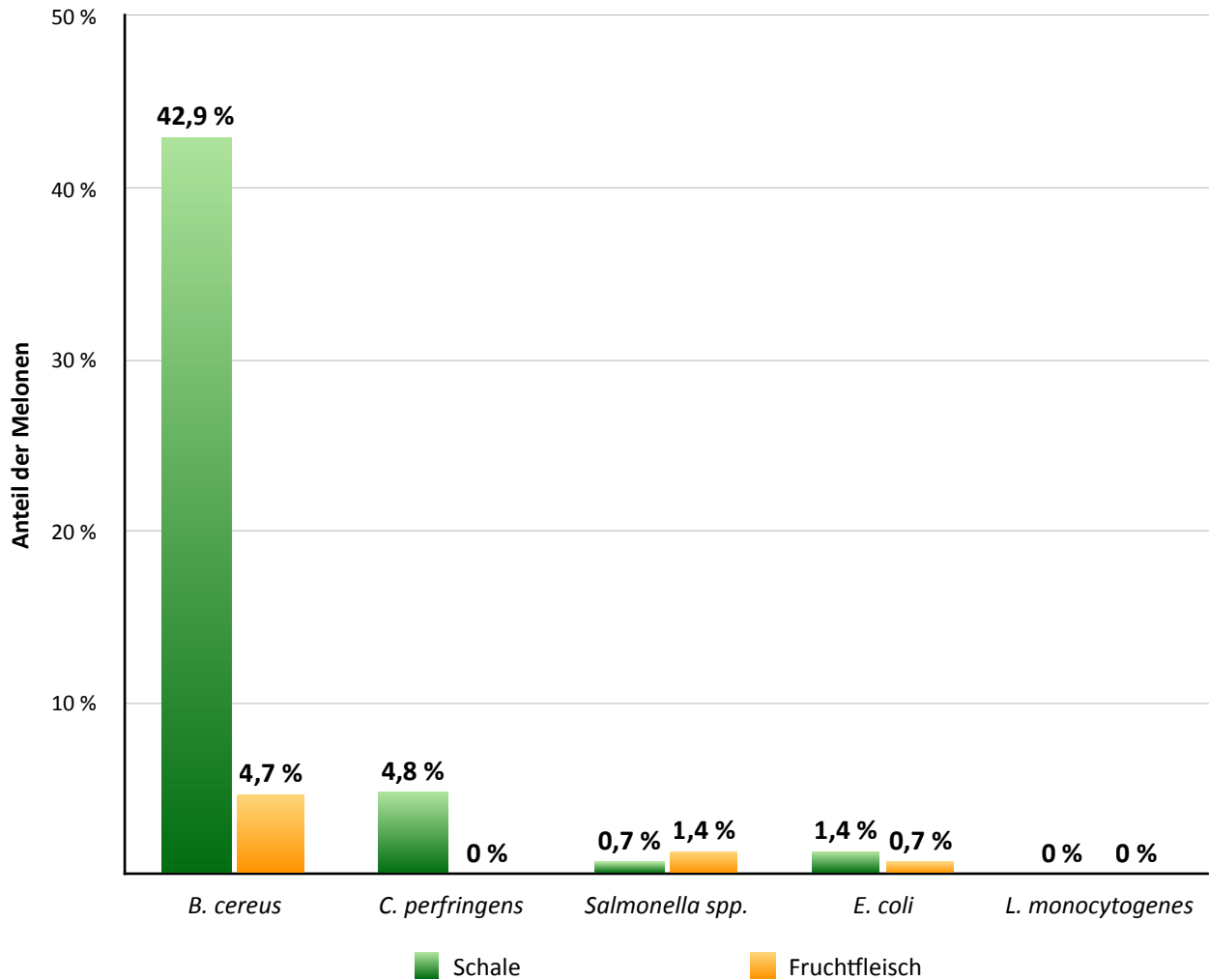
Gram+: Grampositive Bakterien / Gram-: Gramnegative Bakterien / NI: Nicht identifiziert

**Abbildung 25:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch, eingeteilt nach Hefen, Schimmelpilzen, Bakterien entsprechend ihres Phylums, nicht weiter differenzierte grampositive und gramnegative Bakterien sowie nicht identifizierte Mikroorganismen



**Abbildung 26:** Anteil grampositiver und gramnegativer Bakterien sowie nicht identifizierter Mikroorganismen, Schimmelpilze und Hefen aus dem Fruchtfleisch

*Salmonella* spp., *E. coli* und präsumtive *B. cereus* wurden sowohl aus der Schale als auch aus dem Fruchtfleisch isoliert. *Clostridium perfringens* wurde nur auf der Schale nachgewiesen. *Listeria monocytogenes* konnte weder auf der Schale noch aus dem Fruchtfleisch isoliert werden (Abb. 27).



**Abbildung 27:** Nachgewiesene potentiell pathogene Mikroorganismen der äußeren Schale und des Fruchtfleisches aller untersuchten Melonen (n = 147)

## 5 Diskussion

Pflanzliche Lebensmittel, wie beispielsweise Melonen, wurden in den letzten Jahren vermehrt mit lebensmittelbedingten Ausbrüchen in Zusammenhang gebracht (McCollum et al., 2013; Byrne et al., 2014; EFSA, 2014b; FDA, 2015). Die Übertragung von potentiell pathogenen Bakterien durch diese Produkte kann sich als besonders bedeutsam erweisen, insbesondere wenn sie roh verzehrt werden, ohne dass eine wirksame hygienische Gegenmaßnahme zur Erregerabtötung stattfindet. Da solche Mikroorganismen bereits auf Melonen nachgewiesen wurden, werden diese von der EFSA und dem BfR als Risikoprodukte für die Übertragung von Krankheitserregern bewertet (BfR, 2013; EFSA, 2014b). Die mikrobiellen Kontaminationen könnten dabei nicht nur extern auf der Schale, sondern auch endogen im Fruchtfleisch auftreten (Erickson, 2012).

Da bei lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen im Zusammenhang mit Melonen selten nachverfolgt wurde, ob sich die Erreger lediglich auf der Schale oder aber auch im Inneren der Melonen befanden, war es Ziel dieser Arbeit, neben der Überprüfung einer mikrobiellen Kontamination der Schale insbesondere das Fruchtfleisch auf eine endogene Keimbelastung zu untersuchen. Zusätzlich sollten wichtige humanpathogene Mikroorganismen auf der Schale und im Fruchtfleisch gezielt nachgewiesen werden. Für diese Untersuchung wurden die Zuckermelonen Cantaloupe und Galia aus dem internationalen Handel ausgewählt, da sie einerseits zu den starkzehrenden Früchten gehören, die einen erhöhten Nährstoffverbrauch besitzen und andererseits aufgrund ihrer netzartigen Schale eine Ansiedlung von Mikroorganismen auf der Oberfläche vereinfachen (Ukuku und Fett, 2002; EFSA, 2014b; LZE, 2016). Insgesamt wurden 147 Zuckermelonen, 127 Cantaloupe- und 20 Galia-Melonen, aus den zwei wichtigsten Anbauregionen (Mittelmeer-Region und Südamerika) im Zeitraum eines Jahres untersucht.

### 5.1 Mikrobiologischer Status

Die Belastung der 147 Zuckermelonen wurde durch mikrobiologische Untersuchungen von Schale und Fruchtfleisch ermittelt und verglichen. Diese umfasste folgende Parameter: aerobe und anaerobe mesophile Keimzahl, aerobe und anaerobe psychrotolerante Keimzahl, *Enterobacteriaceae*, mesophile Schimmelpilze sowie mesophile und psychrotolerante Hefen. Zur Beurteilung der Ergebnisse wurden die verschiedenen Keimzahlen mit den Richt- und Warnwerten der DGHM zur Beurteilung von Lebensmitteln (DGHM, 2011), sowie den

Vorgaben der VO (EG) Nr. 2073/2005 verglichen (Tab. 4). Weiter wurden zur Bewertung möglicher Zusammenhänge und Unterschiede statistische Analysen durchgeführt.

Die Schale der untersuchten Melonen war zu 100 % mit Mikroorganismen belastet. Dass Früchte eine bestimmte Kontamination mit verschiedenen Mikroorganismen wie Verderbserregern, Schimmelpilzen oder Bakterien auf der Oberfläche aufweisen können, wurde bereits berichtet (Becker et al., 2007). Eine äußere Kontamination von verschiedenen Gemüsesorten konnte auch durch Thuberg et al. (2002) gezeigt werden. Dabei konnten auf Sprossen, Salaten, Sellerie, Blumenkohl und Brokkoli aerobe mesophile Keimzahlen von  $1,9 \times 10^6$  bis  $5,0 \times 10^8$  KbE/g ermittelt werden. Diese Werte stimmen mit den ermittelten Koloniezahlen dieser Arbeit teilweise überein, da die Koloniezahlen der aeroben mesophilen Mikroorganismen auf den Melonenschalen zwischen  $5,0 \times 10^3$  KbE/g und  $8,4 \times 10^8$  KbE/g lagen. Der Median dieser Werte betrug  $3,8 \times 10^6$  KbE/g. Der Median der ermittelten aeroben psychrotoleranten Keime der Schale lag bei  $1,7 \times 10^6$  KbE/g und der von den anaeroben mesophilen und psychrotoleranten Mikroorganismen bei  $7,5 \times 10^5$  KbE/g und  $3,8 \times 10^5$  KbE/g. Im Falle einer Kreuzkontamination während der Verarbeitung könnten sich diese Mikroorganismen auf vorgeschnittenen, verzehrsfertigen Produkten vermehren. In der EU beinhaltet die VO (EG) Nr. 2073/2005 mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel. Die deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, die DGHM, gibt als ergänzende Empfehlung Richt- und Warnwerte für ausgewählte Lebensmittel in Hinblick auf deren hygienisch-mikrobiologische Beschaffenheit an, die jedoch rechtlich nicht bindend sind (DGHM, 2011). Sie beziehen sich in erster Linie auf die Ebene des Inverkehrbringens und damit auf im Verkehr befindlichen Lebensmittel für den Endverbraucher. Unter anderem nennt die DGHM Richt- und Warnwerte für geschnittenes und abgepacktes Obst. Der empfohlene Richtwert für die aerobe mesophile Keimzahl liegt dabei bei  $10^7$  KbE/g. Obwohl dieser Wert nicht auf die mikrobiologische Kontamination der Melonenschale von außen anwendbar ist, noch hierfür sinnvoll erscheint, bleibt zu erwähnen, dass im Rahmen dieser Studie nur bei 34,0 % der Proben auf der ungewaschenen Schale eine Kontamination in Höhe des Richtwertes für verzehrsfähiges, geschnittenes Obst vorlag. Der Großteil der Proben wies eine deutlich geringere Kontamination auf als es für geschnittenes Obst akzeptabel wäre.

Auch für die übrigen ermittelten mikrobiologischen Parameter waren die Keimzahlen auf der Schale im Großteil geringer als es für verzehrsfähiges Obst empfohlen ist. Der Medianwert der *Enterobacteriaceae* lag bei  $7,8 \times 10^3$  KbE/g. Dies deckt sich mit einer Studie von Hassan et al. (2011), in der ebenfalls eine Belastung mit coliformen Bakterien auf Cantaloupe-Melonen

im Bereich von  $1,02 \times 10^3$  KbE/g gefunden wurde. Die Keimzahl der mesophilen und psychrotoleranten Hefen auf der Schale lag bei  $10^4$  KbE/g, während der Median der mesophilen Schimmelpilze  $4,2 \times 10^4$  KbE/g erreichte. In Hinblick auf die Belastung der Schale mit Schimmelpilzen ist zu berücksichtigen, dass beschädigte Oberflächen der Melonen deren Vermehrung begünstigen können (Richards und Beuchat, 2005b). Hierdurch könnte sich die Gefahr der Kontamination des Fruchtfleisches erhöhen und in Folge dessen eine Überschreitung des Richtwertes der DGHM für Schimmelpilze von  $10^3$  KbE/g bei geschnittenem Obst stattfinden.

Bei der statistischen Auswertung zeigte sich kein signifikanter Unterschied im allgemeinen mikrobiologischen Status zwischen den beiden Melonensorten Cantaloupe und Galia, was vermutlich durch eine vergleichbare Schalennetzstruktur bedingt ist. Dafür konnte eine Korrelation des mikrobiologischen Status der Schale mit der Ursprungsregion festgestellt werden. Alle untersuchten mikrobiologischen Parameter, mit Ausnahme der *Enterobacteriaceae* und der mesophilen und psychrotoleranten Hefen, waren signifikant höher ( $p < 0,05$ ) auf Melonen aus der Mittelmeer-Region. Dagegen wurde im Rahmen dieser Arbeit keine Abhängigkeit der Oberflächenbelastung mit *Enterobacteriaceae* von der Melonensorte oder der Ursprungsregion festgestellt, so dass das Risiko einer Kontamination mit Mikroorganismen dieser Familie bei den beiden Melonensorten und Ursprungsregionen vergleichbar war. Dies zeigte sich auch bei mehreren Ausbrüchen, bei denen verschiedene Melonensorten aus verschiedenen Regionen, wie Mexiko, Brasilien, Honduras oder Florida (USA), mit pathogenen *Enterobacteriaceae* kontaminiert waren (CDC, 1991; CDC, 2008; Byrne et al., 2014; FDA, 2015).

Der endogene mikrobiologische Status wurde aus dem Fruchtfleisch bestimmt. Nach dem sterilen Öffnen der Melonen wurde eine endogene Kontamination in 89,8 % der untersuchten Melonen festgestellt (132 von 147), wobei die Keimzahl der meisten Melonen sehr gering war. Obwohl die Melonen bei der botanischen Einteilung dem Gemüse zugeordnet werden, wurde der mikrobiologische Status des Fruchtfleisches in Anlehnung an die Empfehlungen der DGHM für vorgeschnittenes und abgepacktes Obst ausgewertet. Die ermittelten Koloniezahlen überschritten bei keiner der Fruchtfleisch-Proben die Richt- und Warnwerte der DGHM für geschnittenes und abgepacktes Obst. Es ist anzunehmen, dass verarbeitete, vorgeschnittene Früchte hauptsächlich aufgrund der Kreuzkontamination beim Öffnen durch die Schale höhere Keimzahlen erreichen und damit für den menschlichen Verzehr ungeeignet werden. Guo et al. (2001), Fürnkranz et al. (2012) und Müller (2013)

konnten ebenfalls eine endogene Kontamination des Fruchtfleisches von Tomaten, Kürbissen und Zuckermelonen feststellen. Glassner et al. (2015) wiesen eine vergleichbare geringe Kontamination im Fruchtfleisch von *Cucurbitaceae* ( $< 10^3$  KbE/g) nach.

Viele Mikroorganismen sind in der Lage, durch die Stomata der Epidermis in die Pflanze einzudringen (Plotnikova et al., 2000; Gyaneshwar et al., 2001; Roy et al., 2013). Aufgrund dieses Mechanismus könnten sich auf der Schale und im Fruchtfleisch dieselben Mikroorganismen befinden. Allerdings konnte im Rahmen dieser Arbeit kein statistischer Zusammenhang zwischen der Belastung des Fruchtfleisches und der Belastung der Schale festgestellt werden. Somit kann keine direkte Aussage über die Koloniezahlen oder über ein potentielles Risiko bei dem Verzehr des Fruchtfleisches durch die mikrobiologische Untersuchung der Schale erfolgen.

Laut Becker et al. (2007) sind reife und überreife Früchte schlechter haltbar, da viele fruchteigene Phytonzide, sogenannte Phytoantibiotika, zum Ende der Reifung abgebaut werden. Dadurch besitzen die Früchte einen geringeren Schutz und könnten empfindlicher gegenüber einer mikrobiellen Besiedelung auf der Oberfläche sein. Somit könnten gerade bei reifen oder überreifen Melonen höhere Koloniezahlen erwartet werden. Jedoch konnte im Rahmen dieser Arbeit keine Korrelation zwischen dem mikrobiologischen Status der Schale oder dem des Fruchtfleisches und dem Reifegrad festgestellt werden.

Mikroorganismen der Familie *Enterobacteriaceae* zeigten bezüglich ihres Vorkommens keine Korrelation mit der Melonensorte, der Ursprungsregion oder dem Reifegrad. Die Fähigkeit dieser Mikroorganismen, in das Fruchtfleisch von Früchten einzudringen, zeigten die Untersuchungen von Pérombelon (2002) und Zheng et al. (2013). Einige *Enterobacteriaceae* wie *Erwinia* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. oder *Pantoea* spp. sind bereits als Endophyten verschiedener Pflanzen beschrieben worden (Misaghi und Donndelinger, 1990; Mahaffee und Kloepper, 1997; Surette et al., 2003; Glassner et al., 2015). In dieser Arbeit wurden die Gattungen *Staphylococcus* spp., *Clostridium* spp. und die Familie *Enterobacteriaceae* am häufigsten im Fruchtfleisch nachgewiesen. Müller (2013) fand ebenfalls *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens* und *Pantoea agglomerans* im Fruchtfleisch von Zuckermelonen.

Mesophile Schimmelpilze wurden aus dem Fruchtfleisch von 6,1 % der untersuchten Melonen nachgewiesen. Es zeigte sich dabei eine häufigere Belastung in der Melonensorte Cantaloupe ( $p = 0,02$ ) als bei der Sorte Galia. Die Koloniezahlen lagen zwischen  $5,0$  und  $4,0 \times$

10<sup>2</sup> KbE/g. Somit überschritt die Belastung mit diesen Mikroorganismen nicht den Richtwert der DGHM von 1,0 x 10<sup>3</sup> KbE/g für verarbeitetes Obst (DGHM, 2011).

Mesophile und psychrotolerante Hefen wurden ebenfalls im Fruchtfleisch nachgewiesen (1,4 %). Die nachgewiesenen Hefen wurden aus vier Melonen isoliert, von denen drei unreif waren und eine einen optimalen Reifezustand aufwies. Zwei Isolate konnten der Gattung *Rhodotorula* spp. zugeordnet werden. Diese Hefen sind opportunistische Krankheitserreger, die immungeschwächte Menschen infizieren können (Wirth und Goldani, 2012). Richards und Beuchat (2005a,b) beschrieben die Migration einiger Schimmelpilze wie *Cladosporium cladosporioides* und *Penicillium expansum* in das Innere der Melonen. Sie zeigten zusätzlich eine Verstärkung des Eindringens von *Salmonella* Poona in das Fruchtfleisch unter Mithilfe der Schimmelpilze. Daher könnte die Anwesenheit von bestimmten Schimmelpilzen das Eindringen potentiell humanpathogener Mikroorganismen vereinfachen. In dieser Arbeit wurden die im Fruchtfleisch nachgewiesenen Salmonellen jedoch nicht im Zusammenhang mit Schimmelpilzen gefunden. Gudesblat et al. (2009) beschrieben zusätzlich, dass verschiedene Pilze auch einen Einfluss auf das Öffnen und Schließen der Stomata besitzen können, so dass die Möglichkeit einer Besiedelung durch Mikroorganismen einfacher stattfinden könnte. Fürnkranz et al. (2012) wiesen Schimmelpilze im Fruchtfleisch von Kürbissen nach. Mycomyceten der Gattung *Fusarium* sind als pflanzenpathogene Pilze und Bildner von Mykotoxinen seit langer Zeit bekannt (Gedek, 1980). Bacon und Hinton (2011) beschrieben manche Schimmelpilze der Familie *Fusarium* spp. auch als endophytische Pilze für Pflanzen. Allerdings kann eine Kontamination des Fruchtfleisches mit Schimmel-Sporen im Rahmen dieser Arbeit nicht gänzlich ausgeschlossen werden, da eine komplette Abtötung aller Sporen mittels der UV-Licht Behandlung evtl. nicht sichergestellt werden kann. Bei den durchgeführten Sterilitätskontrollen wurden jedoch keine Kreuzkontaminationen festgestellt.

## **5.2 Untersuchung auf potentiell pathogene Mikroorganismen**

Zusätzlich zur Bestimmung des allgemeinen mikrobiologischen Status wurden die Melonen auch gezielt auf verschiedene lebensmittelassoziierte Krankheitserreger untersucht. Humanpathogene Mikroorganismen wie *Salmonella* spp. oder *L. monocytogenes* sind von großer Bedeutung für die Lebensmittelsicherheit und waren bereits Ursache mehrerer Ausbrüche (McCollum et al., 2013; Byrne et al., 2014). *Salmonella* spp. wurden im Zusammenhang mit Melonen als zweitwichtigste Ursache lebensmittelbedingter Ausbrüche durch den Verzehr pflanzlicher Lebensmittel beschrieben (EFSA, 2014b). Zusätzlich wurde in dieser Arbeit auf

mesophile Clostridien und *B. cereus* als wichtige Umweltkeime und potentiell pathogene Mikroorganismen untersucht (BfR, 2016).

Die Untersuchungen der Schale und des Fruchtfleisches aller Cantaloupe- und der Galia-Melonen auf *Salmonella* spp. und auf *L. monocytogenes* wurden sowohl molekularbiologisch (qPCR) als auch kulturell durchgeführt. Auf der Schale konnten mittels qPCR keine *Salmonella* spp. nachgewiesen werden, während mittels kultureller Methoden auf der Schale einer Cantaloupe-Melone (0,7 %) aus Honduras, Region Südamerika, *Salmonella* Braenderup isoliert wurde. Im Fruchtfleisch wurden mittels qPCR drei positive Proben aus der Sorte Cantaloupe, die aus Honduras, Italien und Spanien stammten, detektiert, die jedoch nicht kulturell nachweisbar waren. Außerdem wurden kulturell zwei *Salmonella* spp. Serovare aus dem Fruchtfleisch von zwei Galia-Melonen isoliert (1,4 %), die nicht mittels PCR detektiert wurden (*Salmonella* Infantis und *Salmonella* Choleraesuis, Variante Kunzendorf, H<sub>2</sub>S+). Diese Divergenz kann durch die Sensitivität und Spezifität der verwendeten PCR bedingt sein. Bei den PCR-positiven Proben ohne kultivierbare Salmonellen wurden vermutlich tote Salmonellenzellen nachgewiesen. Das Risiko von mit *Salmonella* spp. kontaminierten Melonen für die öffentliche Gesundheit wurde bereits bestätigt (BfR, 2013; EFSA, 2014b). Viele der lebensmittelbedingten Ausbrüche wurden auf Melonen durch diese Mikroorganismen verursacht (CDC, 1991; CDC, 2002; CDC, 2011b; Byrne et al., 2014; FDA, 2015). Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass *Salmonella* spp. nicht nur auf der Schale, sondern auch endogen in Zuckermelonen nachzuweisen sind (insgesamt 2,0 % der Melonen). Somit stellen auch geschnittene, verzehrsfertige Melonen ein Risiko für den Verbraucher dar.

Als weiteres wichtiges pathogenes Bakterium verursachte auch *L. monocytogenes* einen großen Ausbruch in den USA im Zusammenhang mit Wassermelonen (McCollum et al., 2013). Im Gegensatz zu Salmonellen kann sich gerade *L. monocytogenes* im Fruchtfleisch von Melonen bei schlecht gekühlter Ware vermehren (BfR, 2013). Im Rahmen dieser Arbeit wurde *L. monocytogenes* weder auf der Schale noch im Fruchtfleisch kulturell nachgewiesen. Mittels qPCR wurden drei positive Schalen-Proben und vier positive Fruchtfleisch-Proben detektiert. Allerdings lagen die Ct-Werte mit über 35 zu hoch, als dass diese PCR-Ergebnisse als positiv eingestuft werden konnten.

Eine *E. coli*-Kolonie wurde sowohl auf der Schale von zwei (1,4 %), als auch im Fruchtfleisch von einer Melone (0,7 %) nachgewiesen. Dieser Mikroorganismus ist als Indikator für Fäkalkontamination bei diesen Lebensmitteln empfohlen (EFSA, 2014b).



Obwohl die Belastung vom Fruchtfleisch mit *Salmonella* spp. und *E. coli* nicht sehr hoch ist, sollten die Hygienebedingungen bei der Zubereitung von Melonen berücksichtigt werden. Melonen sind, wenn sie als Ganzes verkauft werden, im Supermarkt nicht kühl gelagert und könnten aufgrund der externen und endogenen Belastung ein Risiko für den Verbraucher darstellen.

Die größte Gefahr des Verbrauchers durch *B. cereus* geht von dessen Produktion der *B. cereus*-Toxine, Enterotoxin und Cereulid, im Lebensmittel oder im Darm aus, die in der Regel bei Koloniezahlen zwischen  $10^5$  und  $10^8$  KbE/g in relevanter Menge produziert werden (Stenfors Arnesen et al., 2008). Präsumtive *B. cereus* wurden auf 84 von 147 Melonen (42,9 %) nachgewiesen und erreichten Keimzahlen von bis zu  $5,6 \times 10^4$  KbE/g, insbesondere in drei Cantaloupe-Melonen aus Costa Rica mit Reifegrad 3 und einen aus Italien mit Reifegrad 2. Der Median lag bei  $< 10^1$  KbE/g und zeigt, dass die Melonen in der Regel nur mit einer unbedenklich geringen Menge an *B. cereus* belastet sind. Jedoch zeigten einige Melonen mit Keimzahlen von  $10^4$  KbE/g eine für den Verbraucher möglicherweise bedenkliche Belastung. Cantaloupe-Melonen waren dabei signifikant häufiger ( $p = 0,01$ ) mit präsumtiven *B. cereus* daher auf der Schale belastet als Galia-Melonen. Im Fruchtfleisch wurde dieser Mikroorganismus aus sieben Melonen isoliert (4,7 %), was eine mögliche Fähigkeit dieses Bakteriums zum Eindringen in das Innere der Früchte andeutet. *Bacillus cereus* ist ein Bakterium, das ubiquitär verbreitet ist. Durch die Verschmutzung mit sporenhaltigen Erdbodenpartikeln kann *B. cereus* leicht auf Melonen übertragen werden (Stenfors Arnesen et al., 2008). *Bacillus cereus* ist auch in der Rhizosphäre von Pflanzen vorhanden (Berg et al., 2013). Mikroorganismen der Familie *Bacillaceae* wurden bereits im Fruchtfleisch von Zuckermelonen und anderen Sorten der Familie *Cucurbitaceae* bereits beschrieben (Glassner et al., 2015).

Mesophile Clostridien wurden auf der Schale bei 55,8 % und im Fruchtfleisch bei 42,9 % der Melonen nachgewiesen. Auf der Schale lag die Keimzahl bei bis zu  $10^4$  KbE/g, der Median allerdings nur bei  $< 10^1$  KbE/g. *Clostridium* spp. sind ebenfalls Umweltkeime, die obligat anaerob sind und durch die Bildung von Sporen überleben können. Diese Sporen sind relativ hitzestabil und können Temperaturen bis zu 100 °C überstehen (Yousef und Carlstrom, 2003). Im Vergleich wurden die mesophilen Clostridien sowohl auf der Schale als auch im Fruchtfleisch signifikant häufiger auf Melonen aus der Mittelmeer-Region nachgewiesen als auf Melonen aus Südamerika ( $p = 0,00$ ). Daher könnten Melonen aus diesen Ländern ein besonderes Risiko darstellen. Als potentiell pathogener Mikroorganismus wurde *C. perfringens*

auf sieben der untersuchten Melonen nachgewiesen (4,8 %). Zwei diese Melonen stammten aus Südamerika und hatten Reifegrad 3. Die anderen fünf mit Reifegraden von 1 bis 3 stammten aus der Mittelmeer-Region. Dieses Bakterium kann sowohl vom Erdboden, als auch durch das Wasser übertragen werden (McClung, 1945). Aus dem Fruchtfleisch wurde dieser Keim nicht isoliert.

Obwohl die Mehrheit der Melonen keine hohen Keimzahlen von *C. perfringens* auf der Schale aufwiesen, könnte ein Risiko für die Gesundheit, insbesondere für immunsupprimierte Menschen, Schwangere und Kinder dennoch bestehen (PHAC, 2011; CDC, 2016).

Trotz der durchgeführten thermischen und UV-Behandlung der Melonen vor dem Öffnen kann generell bei Sporenbildnern die Abtötung aller Sporen nicht sichergestellt werden, so dass eine Sporenkontamination des Fruchtfleisches beim Öffnen nicht ausgeschlossen werden kann. Mithilfe von Sterilitäts-Kontrollen konnte jedoch sichergestellt werden, dass alle Melonen unter sterilen Bedingungen eröffnet wurden.

### **5.3 ESBL-bildende *Enterobacteriaceae***

Beim Screening auf ESBL-bildende Bakterien auf der Schale wurden von 56 der untersuchten Melonen (38,1 %) 73 potentiell resistente Mikroorganismen aus der Anreicherung isoliert. Nach der Subkultivierung auf ESBL-Agar waren nur sechs Mikroorganismen-Isolate diesbezüglich verdächtig, von denen keines als ESBL-Bildner bestätigt werden konnte. Weitere Untersuchungen zur Identifizierung der dennoch vorhandenen potentiell resistenten Mikroorganismen stehen allerdings noch aus. McMahon et al. (2007) fanden heraus, dass kühl gelagerte Produkte eine geringere Belastung mit resistenten Mikroorganismen aufwiesen. Die Kühlagerung der Proben vor der Untersuchung könnte einen Einfluss auf das Ergebnis gehabt haben, da auch resistente Mikroorganismen durch die Lagertemperatur im Wachstum beeinflussbar sind.

Unabhängig hiervon wurden antibiotikaresistente Mikroorganismen bereits aus unterschiedlichen pflanzlichen Produkten isoliert. Reuland et al. (2014) fanden ESBL-bildende Mikroorganismen auf 6,0 % der untersuchten Gemüse, Bohnensprossen, Radieschen, Frühlingszwiebeln und Pastinaken, während Kim et al. (2015) 10,1 % positive Proben nachwiesen. Untersuchungen von Hassan et al. (2011) identifizierten auf Gemüse aus Saudi Arabien 2,3 % der isolierten Mikroorganismen als ESBL-Bildner, während insgesamt bis zu

14,8 % der Isolate eine maximale Hemmkonzentration gegen die untersuchten Antibiotika aufwiesen. ESBL-bildende *Enterobacteriaceae* wurden bisher vorwiegend auf Sprossen und Salat festgestellt. Kim et al. (2015) fanden dabei eine signifikant höhere Belastung von Sprossen (19,8 %) im Vergleich zu gemischten Salaten (1,0 %).

Da Melonen roh verzehrt werden, ist die Präsenz resistenter Mikroorganismen von großer Bedeutung. Der Verbraucher wäre diesen übertragbaren antibiotikaresistenten Mikroorganismen direkt ausgesetzt.

## 5.4 Mikroorganismen im Fruchtfleisch

Außer den potentiell humanpathogenen Mikroorganismen, die aus dem Fruchtfleisch isoliert wurden, wurden viele weitere Mikroorganismen gefunden, die im Rahmen dieser Arbeit auch die Fähigkeit zur Besiedelung des Fruchtfleisches gezeigt haben. Einige von diesen Bakterien gelten als opportunistische Pathogene für den Menschen.

Mikroorganismen der Gattung *Staphylococcus* spp. waren die meistisolierten Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch. In mehr als der Hälfte aller untersuchten Melonen (50,3 %) wurden insgesamt 88 Isolate zehn verschiedener *Staphylococcus* Spezies nachgewiesen. *Staphylococcus aureus* war die einzige Koagulase-positive *Staphylococcus* spp. im Fruchtfleisch von 4,8 % der untersuchten Melonen vorhanden. Staphylokokken sind Bakterien der Familie *Staphylococcaceae*, die bei Menschen und Tieren vorkommen und sowohl als opportunistische Infektionserreger wirken können als auch lebensmittelbedingte Vergiftungen durch Staphylokokken-Enterotoxine verursachen (BfR, 2016). Die Toxine werden durch die koagulase-positiven Staphylokokken gebildet. Cantaloupe-Melonen (49,6 %) und Galia-Melonen (55,0 %) waren vergleichbar häufig mit Staphylokokken kontaminiert. *Staphylococcus* spp. sind reichlich in der Rhizosphäre vorhanden (Berg et al., 2013) und kommen endophytisch in Karotten vor (Surette et al., 2003).

Außer den Staphylokokken wurden vier andere Gattungen der Familie *Micrococcaceae* im Fruchtfleisch nachgewiesen, jedoch in kleinerer Anzahl. *Micrococcus luteus* war das am häufigsten identifizierte Bakterium (46,4 %) nach den *Staphylococcus* spp. Das Fruchtfleisch von 17,0 % der untersuchten Melonen war mit diesen Mikroorganismen belastet, ohne einen signifikanten ( $p > 0,05$ ) Unterschied zwischen den Melonensorten, aber mit einer signifikanten ( $p = 0,04$ ) Korrelation zwischen der Belastung des Fruchtfleisches und dem Reifegrad. Unreife Melonen waren signifikant häufiger belastet als reife und überreife

Melonen. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Mikrobiota des Fruchtfleisches sich mit der Reifung bezogen auf einzelne Bakterien-Familien verändern kann. Obgleich es keinen signifikanten Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen der allgemeinen Belastung des Fruchtfleisches und dem Reifegrad gibt, kann es doch zu einer Veränderung der vorhandenen Mikroorganismen kommen; dadurch kann das Risiko für die Übertragung mancher Mikroorganismen ab- oder zunehmen. Die Mikroorganismen der Gattungen *Arthrobacter* spp., *Kocuria* spp. und *Micrococcus* spp., die in dieser Arbeit isoliert wurden, kommen endophytisch in Karotten (Surette et al., 2003), Kartoffeln (De Boer und Copeman, 1974), Tomaten (Samish et al., 1961) und anderen Gemüsesorten der Familie *Cucurbitaceae* vor (Glassner et al., 2015). Jedoch erfolgte noch kein Nachweis in Melonen.

Viele andere Mikroorganismen wurden im Fruchtfleisch nachgewiesen, unter anderem neben *B. cereus* weitere Vertreter der Familie *Bacillaceae* (14,9 %) sowie 25 verschiedene *Pseudomonas* spp. (12,3 %). *Bacillaceae* und *Pseudomonas* spp. sind auch in der Rhizosphäre vorhanden und bereits als Endophyten verschiedener Pflanzen und Früchte beschrieben (Samish et al., 1961; Mundt und Hinkle, 1976; Mahaffee und Kloepper, 1997; Surette et al., 2003; Glassner et al., 2015). Fürnkranz et al. (2012) und Müller (2013) wiesen diese Mikroorganismen auch im Fruchtfleisch von Kürbissen bzw. Zuckermelonen nach.

Glassner et al. (2015) konnten  $2,9 \times 10^2$  KbE/g von  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\beta$ -Proteobacteria sowie Firmicutes und Actinobacteria in *Cucurbitaceae* nachweisen. In dieser Arbeit konnten die gleichen Klassen, außer  $\alpha$ -Proteobacteria, kulturell isoliert werden. *Microbacterium arborescens* der Klasse Actinobacteria wurde sowohl in dieser Arbeit als auch durch Müller (2013) im Fruchtfleisch von Zuckermelonen nachgewiesen. *Pectobacterium carotovorum* und *Pseudomonas chlororaphis* wurden auch von Fürnkranz et al. (2012), allerdings in Kürbis nachgewiesen. *Serratia marcescens* ist auch reichlich in der Rhizosphäre vorhanden (Berg et al., 2013). Die Internalisierung dieses Mikroorganismus wurde in Reispflanzen bereits von Gyaneshwar et al. (2001) beschrieben. *Pantoea dispersa*, das auch im Fruchtfleisch vorhanden war, kann als „Plant growth-promoting Rhizobacteria“ (PGPR) wirken (Fernández et al., 2008). Dies sind Bakterien, die zur Ertragssteigerung benutzt werden können und, anhand der Ergebnisse, das Innere der Pflanzen und deren Früchte besiedeln. Viele dieser Bakterien, wie *Pantoea dispersa* oder *Serratia marcescens*, sind fakultativ pathogene Keime für den Menschen (Bizzarro et al., 2007; Hagiya und Otsuka, 2014).

Wie Iniguez et al. (2005), Klerks et al. (2007) und Roy et al. (2013) berichtet haben, hängt die Internalisierung von Mikroorganismen sowohl von der Art des Mikroorganismus als auch von

der Pflanze ab. Manche Mikroorganismen wie *E. coli* O157:H7 werden einfacher durch *Arabidopsis thaliana* erkannt und lösen dadurch eine stärkere Immunantwort aus, die das Eindringen verhindert. Andere wie *Salmonella* Typhimurium SL1344 lösen nur eine schwache Immunantwort aus und besiedeln das Innere der Pflanze (Roy et al., 2013). Die Untersuchungen von Klerks et al. (2007) zeigten unterschiedliche Internalisierungsgrade von verschiedenen *Salmonella enterica* Serovaren in verschiedene Salatsorten. Auch die Umweltbedingungen können die Antwort des pflanzlichen Immunsystems beeinflussen. Starke Beleuchtung oder höhere relative Feuchtigkeit können die Öffnung der Stomata verstärken und damit das Eindringen von Keimen vereinfachen (Roy et al., 2013). Daher könnten die in dieser Arbeit nachgewiesenen Mikroorganismen sich von denen bei anderen Melonensorten und anderen pflanzlichen Lebensmitteln unterscheiden.

## 5.5 Mögliche Ursachen einer endogenen Kontamination

Die endogene Kontamination der Pflanzen und deren Früchte ist stark von ihrer Umgebung beeinflusst. Die Anzahl und Art der Mikroorganismen, die auf den Pflanzen und dem umliegenden Erdboden vorkommen, sind von der Anbaumethode, klimatischen Bedingungen, Wasserversorgung, Düngung, Ursprungsregion und der Pflanze an sich abhängig.

Die Melonenproduktion findet zu 75 % im Freilandanbau statt (EFSA, 2014b). Diese Methode schützt die Melonen weder vor schlechten klimatischen Bedingungen, noch vor tierischen Überträger-Reservoirs (Lopez-Velasco et al., 2012; EFSA, 2014b). Für die Anzucht von Melonen wird die Nutzung von Plastik-Mulch empfohlen (Kemble, 1996). Cevallos-Cevallos et al. (2012) zeigten eine vereinfachte Ausbreitung von *Salmonella* spp. auf diesem Material im Vergleich mit organischem lackiertem Mulch, der jedoch höhere Materialkosten für die Bauern bedeutet.

Bei heftigen Regenfällen könnten im Erdboden vorkommende Mikroorganismen leicht auf die Melonenpflanzen und die Melonen übertragen werden (Lopez-Velasco et al., 2012; EFSA, 2014b). Große Wassertropfen vereinfachen die Bewegung von Mikroorganismen auf der Oberfläche bis zu einer Eintrittspforte (Erickson, 2012). Zusätzlich können im Freilandanbau Wasseransammlungen auftreten und zu einem verlängerten Kontakt von Mikroorganismen mit der Pflanzenoberfläche führen (Lopez-Velasco et al., 2012; EFSA, 2014b), so dass die Mikroorganismen sich gut auf der netzartigen Schale der Melonen ansiedeln können. Auch die klimatischen Bedingungen während des Melonenanbaus könnten die externe und interne

Kontamination mit Mikroorganismen in dieser Studie beeinflusst haben. Dies konnte allerdings nicht näher untersucht werden, sollte jedoch für Risikoeinschätzungen mitbeachtet werden.

Die hygienischen Maßnahmen vor der Ernte sind am wichtigsten, um eine äußere und interne Kontamination des Fruchtfleisches zu vermeiden. Die Kontamination der Samen, der Blüten, der Pflanze durch die Düngung und das Wasser (Solomon et al., 2002; Cooley et al., 2003; EFSA, 2014b) können zu einer Besiedelung des Fruchtfleisches führen. Auch bei der Ernte können Erntearbeiter bei mangelhaften hygienischen Bedingungen Früchte kontaminieren (EFSA, 2014b). Das Wasser spielt eine wichtige Rolle in jeder Phase der Anzucht der Pflanzen und ist ein wichtiger Vektor für Mikroorganismen (Solomon et al., 2002; Gagliardi et al., 2003; Castillo et al., 2004; EFSA, 2014b). Die meistbenutzte Wasserquelle in Europa ist das Oberflächenwasser (EFSA, 2014b), die nach dem Rohwasser das zweithöchste Risiko als Wasserquelle für eine mikrobielle Kontamination aufweist (Leifert et al., 2008). Durch die Nutzung sauberen Wassers würde der Zugang zu den Pflanzen für viele potentielle Pathogene verhindert werden. Daher sollte eine regelmäßige Kontrolle der Qualität des Wassers durchgeführt werden, damit eine möglichst geringe Übertragung von Mikroorganismen stattfindet. Die Düngung stellt ebenso ein wichtiges Risiko als Kontaminationsquelle dar (Bowen et al., 2006). Als Starkzehrer brauchen Melonen eine große Menge Dünger (LZE, 2016), was bei organischer Düngung zu einem erhöhten Risiko führt.

Wenn die Oberfläche der Pflanze mit Mikroorganismen besiedelt wurde, können diese auf verschiedenen Wegen in das Fruchtfleisch gelangen:

Einerseits könnten kontaminierte Samen zu einer vermehrten Keimzahl in der Pflanze führen. Dagegen sprechen Untersuchungen, in denen kontaminierte Samen zwar stärker kontaminierte Sprossen ergaben, aber die Keimzahlen nahmen während der nachfolgenden Wachstumsphase wieder ab (Harman, 1983; Mabagala, 1997; Deering et al., 2011). Andererseits kann die Blüte vor der Fruchtbildung kontaminiert worden sein, was eine Internalisierung von Mikroorganismen zur Folge haben kann. Zheng et al. (2013) bestätigten diesen Kontaminationsweg für Tomaten, womit dieses auch für Melonen möglich sein könnte.

Beschädigungen der Epidermis der Pflanze und der Schale der Melonen können ebenfalls einen Zugang zum Pflanzeninneren schaffen (Brandl, 2008; Erickson, 2012). Auch Stomata,

Hydathoden (Poren) und die Trichomen (Blatthaare) können als Eintrittspforten von potentiell humanpathogenen Mikroorganismen dienen. Dieser Weg wurde für *E. coli* und *Salmonella* spp. bereits beschrieben und könnte einen Weg für die Internalisierung bei denen hier untersuchten Melonen darstellen.

Eine weitere Möglichkeit der endogenen Kontamination könnte eine Aufnahme der Mikroorganismen über die Wurzeln sein, was anhand des Nachweises von in der Rhizosphäre typischen Mikroorganismen wie *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia marcescens*, *B. cereus* oder *Stenotrophomonas maltophilia* wahrscheinlich ist (Berg et al., 2013). Dieser Kontaminationsweg ist für fremde Mikroorganismen, aber auch für Rhizobakterien mehrfach beschrieben (Gyaneshwar et al., 2001; Pérombelon, 2002; Berg et al., 2005; Klerks et al., 2007; Berg et al., 2013). Nach der Internalisierung durch die Stomata und die Wurzeln könnten die Bakterien durch Translokation entlang der Leitgefäße die Früchte und weitere Pflanzenteile besiedeln (Gyaneshwar et al., 2001, Pérombelon, 2002).

Eine Möglichkeit für eine Kontamination wäre auch die aktive Injektion von Wasser zur Gewichtserhöhung der Früchte. Dokumente oder Literatur dazu wurde allerdings nicht gefunden.

Die statistische Auswertung der Daten hat einen Zusammenhang zwischen der Belastung mit mesophilen Clostridien, sowohl der Schale als auch des Fruchtfleisches, und der Ursprungsregion Mittelmeer gezeigt. Ein Einfluss der Umgebung der Pflanze, wie der Ursprungsregion, könnte die Internalisierung von Mikroorganismen begünstigen.

## **5.6 Bedeutung für die Lebensmittelsicherheit**

Die Möglichkeit einer endogenen Kontamination des Fruchtfleisches von Melonen mit Mikroorganismen wurde im Rahmen dieser Arbeit gezeigt. Dadurch stellt nicht nur die Schale dieser Frucht ein Infektionsrisiko dar (BfR, 2013; EFSA, 2014b), sondern auch das Fruchtfleisch an sich. Die natürliche endogene Besiedelung von pflanzlichen Produkten wurde unter anderem in den Untersuchungen von Gyaneshwar et al. (2001) für Reis, von Fürnkranz et al. (2012) für Kürbis und von Glassner et al. (2015) für *Cucurbitaceae* bereits zuvor berichtet.

Obwohl viele der nachgewiesenen Keime beim Menschen Krankheiten verursachen können, fügen sie der Pflanze meistens keine Beschädigungen zu (Iniguez et al., 2005), so dass die kontaminierten Produkte äußerlich von den unkontaminierten nicht unterschieden werden

können. Berger et al. (2011) zeigten auch, dass *Salmonella enterica* in der Pflanze *Arabidopsis thaliana* sowohl extern als auch intern vorkommen kann. Diese Pflanze scheint die *Salmonella*-Stämme zu tolerieren, obwohl manche Serovare das Absterben mancher Blätter verursachten.

Vorgeschnittene und verpackte Produkte stellen ein besonderes Risiko dar. Trotz der vorherigen Behandlung der Schale mit reinem Wasser oder Wasser mit Dekontaminationsmitteln mit einem guten Wirkungsquotienten, wie Chlor (US-FDA, 2001), ist eine komplette Dekontamination nicht möglich. Zusätzlich können vorhandene Mikroorganismen von kontaminierten zu nicht kontaminierten Stellen übertragen werden (EC, 2002; Parnell et al., 2005; Fan et al., 2008; Ölmez and Kretzschmar, 2009). Eine Kreuzkontamination von der Schale zum Fruchtfleisch ist dann hochwahrscheinlich. Trotz des Waschens bleibt das Fruchtfleisch zudem unbehandelt und endogene Mikroorganismen könnten eine Infektion verursachen.

Obwohl Noel et al. (2010) festgestellt haben, dass *Salmonella* spp. sich im Fruchtfleisch von Tomaten vermehren können, ist eine Vermehrung der nachgewiesenen Mikroorganismen im Fruchtfleisch der untersuchten Melonen aufgrund der in dieser Arbeit festgestellten geringen Koloniezahlen unwahrscheinlich. Auch Erickson (2012) und Berger et al. (2011) konnten zeigen, dass verschiedene *Salmonella*-Serovare in der Phyllosphäre und im Mesophyll überleben, sich aber nicht vermehren, so dass pflanzliche Produkte als reiner Vektor für Infektionserreger betrachtet werden sollten. Trotz niedriger Koloniezahlen von potentiell pathogenen Mikroorganismen im Fruchtfleisch sollten die Hygienebedingungen bei der Zubereitung von Melonen berücksichtigt werden. Melonen werden, wenn sie als Ganzes verkauft werden, im Supermarkt nicht kühl gelagert und könnten aufgrund der externen und endogenen Belastung ein Risiko für den Verbraucher darstellen. Zusätzlich sind Melonen für Buffets oder Veranstaltungen vorgeschnitten und die Melonenstücke werden bei Raumtemperatur aufbewahrt. Dies kann zu einer Keimvermehrung in den bereits geschnittenen Melonen führen und somit das Risiko einer Infektion steigern (BfR, 2013).

Die mögliche Kontamination der Pflanzen mit lebensfähigen, aber nicht kultivierbaren Bakterien ist ebenfalls möglich. Durch die alleinige Keimzählung kann die eigentliche Belastung daher unterschätzt werden (Dinu und Bach, 2011; Quilliam et al., 2012).

Abschließend zeigen die in dieser Arbeit ermittelten Daten eine Belastung vom Fruchtfleisch bei der Mehrheit der untersuchten Melonen. Die Übertragung von opportunistischen und



potentiell pathogenen Mikroorganismen könnte sowohl durch die Schale als auch durch das Fruchtfleisch stattfinden.

Viele von den Pathogenen, die mit pflanzlichen Produkten in Verbindung stehen, sind ursprünglich Erreger bei Tieren und Menschen. Die Notwendigkeit einer Adaptation dieser Mikroorganismen an neue Umwelt- und Wirt-Bedingungen ist möglich. Sowohl strukturelle Veränderungen (Iniguez et al., 2005) als auch genetische Unterschiede im Vergleich mit Menschen- und Tierpathogenen (Noel et al., 2010) könnten das Eindringen von manchen Pathogenen in die Pflanzen ermöglichen. Zur Risikoeinschätzung wäre die Nutzung von an Pflanzen adaptierten Stämmen daher von Interesse.

Implementierungen der „Good Agrar (GAP) Practices“, sowie von HACCP-Konzepten bei der Ernte sollten verstärkt werden, um die Kontamination der Schale und die Internalisierung von Mikroorganismen vor der Ernte zu verringern. Beispielsweise könnte das Bewässern der Pflanzen in den Abendstunden durchgeführt werden, um diese Internalisierungsmöglichkeit zu reduzieren. Die Cantaloupe-bedingten Ausbrüche im Zusammenhang mit *Salmonella* Poona in den USA und Canada in drei aufeinanderfolgenden Jahren zeigten, wie unkontrollierte Kontaminationsquellen zu wiederholten Infektionen führen können. Weitere hygienische Maßnahmen in Bezug auf die endogene Kontamination dieser Produkte und weiterer roh verzehrter pflanzlicher Lebensmittel sollten ergriffen werden, um weitere damit verbundene Ausbrüche zu vermeiden.

## 6 Zusammenfassung

Melonen gehören zu den roh verzehrten Gemüsesorten, die in der letzten Zeit mit mehreren lebensmittelbedingten Ausbrüchen verbunden waren. Sowohl die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit als auch das Bundesinstitut für Risikobewertung bezeichneten Melonen daher als Produkte mit einem bestimmten Risiko für die Übertragung von pathogenen Erregern auf den Menschen. Das Vorkommen dieser Erreger auf der Oberfläche von Obst und Gemüse ist bereits bekannt, jedoch führt eine mögliche Übertragung von im Fruchtfleisch vorkommenden Mikroorganismen zu neuen Hygieneanforderungen, da die internalisierten Mikroorganismen nicht mehr aus diesem Lebensmittel entfernt werden können. Ziel dieser Arbeit war es, eine mikrobielle Kontamination sowohl des Fruchtfleisches als auch der Schale von Melonen festzustellen sowie mögliche Zusammenhänge untereinander zu überprüfen. Dazu wurden 147 Melonen aus den Regionen Mittelmeer und Südamerika mikrobiologisch auf ihren Hygiene-Status sowie auf potentiell pathogene Mikroorganismen untersucht.

Die Melonenschalen waren zu 100 % mit Mikroorganismen belastet. Die Koloniezahlen lagen zwischen  $5,0 \times 10^3$  KbE/g und  $8,4 \times 10^8$  KbE/g. Die Belastung des Fruchtfleisches erreichte eine maximale Koloniezahl von  $4,6 \times 10^3$  KbE/g. Es wurden insgesamt 432 Isolate von 132 Melonen (89,8 %) nachgewiesen. Unter ihnen befanden sich Gattungen, die opportunistisch und potentiell pathogene Spezies beinhalten. Die Mehrheit der gewonnenen Isolate wurde den Gattungen *Staphylococcus* spp. und *Clostridium* spp., sowie der Familie *Enterobacteriaceae* zugeordnet. *Salmonella* spp., *E. coli* und Isolate der *B. cereus* Gruppe konnten sowohl auf der Schale (0,7 %, 1,4%, 42,9 %), als auch im Fruchtfleisch (1,4 %, 0,7 %, 4,7 %) der Proben nachgewiesen werden. *C. perfringens* wurde ebenfalls von der Schale isoliert (4,8 %). Ebenfalls konnten mesophile Schimmelpilze (neun Isolate) und Hefen (vier Isolate) aus dem Fruchtfleisch isoliert werden. Zusätzlich wurden mittels ESBL-Selektivagar sechs antibiotikaresistente Mikroorganismen von der Schale isoliert, die jedoch nicht als ESBL-Bildnern bestätigt wurden.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass endogene mikrobielle Kontaminationen von Melonen mit unverletzter Schale regelmäßig vorkommen. Aufgrund des Nachweises von pathogenen Mikroorganismen, wie *Salmonella* spp., auf der Schale sowie im Fruchtfleisch kann eine Übertragung dieser Erreger auf den Menschen durch den Verzehr der Melonen, auch nach dem Waschen, nicht ausgeschlossen werden.

## 7 Summary

Melons are vegetables, which are eaten raw and have already been associated with recent foodborne outbreaks. The European Food Safety Authority and The Federal Institute for Risk Assessment have described them as products with a certain risk of transmission of potentially pathogenic germs. The occurrence of these microorganisms on the surface of vegetables is already known. The transmission of endogenous strains constitutes new hygiene requirements since internalized microorganisms cannot be removed from the flesh of raw products. The aim of this study was to examine the microbiological hygiene status and the presence of potentially pathogenic microorganisms of melon flesh and skin, as well as to examine possible correlations between the prevalence and level of contamination, ripeness degree, melon variety and origin. For this purpose, 147 melons from the two main regions of cultivation (Mediterranean area and South America) were sampled.

The skin of the melons was contaminated in 100 % of the samples. Colony counts were between  $5.0 \times 10^3$  CFU/g and  $8.4 \times 10^8$  CFU/g. The contamination of the flesh reached a maximum colony count of  $4.6 \times 10^3$  CFU/g with a prevalence of 89.8%. Altogether, 432 isolates were found in 132 melons. Among the isolates both opportunistic and potentially pathogenic strains were identified. The majority of these microorganisms belong to *Staphylococcus* spp., *Clostridium* spp. and *Enterobacteriaceae*. *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* were found both on the skin (0.7%, 1.4% and 42.9%, respectively) and in the flesh (1.4%, 0.7% and 4.7%, respectively). *Clostridium perfringens* was also isolated from the skin. Mesophilic moulds (9 isolates) and yeasts (4 isolates) were also found in the flesh. A total of six antimicrobial resistant microorganisms were isolated by using ESBL-selective agar from the skin, none of them confirmed as Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase producer. The statistical examination of the microbiological load of the skin and of the flesh, as well as between these and other criteria, gave various significant correlations or differences.

Summarizing, the study has shown that the endogenous contamination of melon flesh occurs regularly. Furthermore, pathogenic microorganisms such as *Salmonella* spp. were detected both on the skin and in the flesh of the melons. As a result, a risk for the consumers due to a transmission of those microorganisms from both melon flesh and skin cannot be excluded.

## 8 Literaturverzeichnis

- AMI (2015). Agrarmarkt Informations-Gesellschaft mbH. AMI-Analyse auf Basis des GfK (Gesellschaft für Konsumforschung)-Panels über Melonenkäufe in Deutschland. Persönliche Mitteilung 24.08.2015.
- Aurass, P., Prager, R. und Flieger, A. (2011). EHEC/EAEC O104:H4 strain linked with the 2011 German outbreak of haemolytic uremic syndrome enters into the viable but non-culturable state in response to various stresses and resuscitates upon stress relief. *Environmental Microbiology* 13(12):3139-3148.
- Bacon, C. W. und Hinton, D. M. (2011). *Bacillus mojavensis*: Its endophytic nature, the surfactins, and their role in the plant response to infection by *Fusarium verticillioides*. *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*. D. K. Maheshwari. Berlin, Heidelberg, Springer Verlag: 21-39.
- Barak, J. D. und Schroeder, B. K. (2012). Interrelationships of food safety and plant pathology: the life cycle of human pathogens on plants. *Annual Review Phytopathology* 50:241-266.
- Becker, B., Trierweiler, B., Geisen, R., Frank, K. und Müller, G. (2007). Frischobst. in W. Holzapfel (Hrsg.). *Mikrobiologie der Lebensmittel. Lebensmittel pflanzlicher Herkunft*. Hamburg, Behr's Verlag. 2. vollständige bearbeitete Auflage: 25-52.
- Berg, G., Eberl, L. und Hartmann, A. (2005). The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. *Environmental Microbiology* 7(11):1673-1685.
- Berg, G., Eberl, L. und Hartmann, A. (2013). Die Rhizosphäre als Reservoir für fakultativ pathogene Bakterien. *Ökologie pathogener Bakterien. BIO Spektrum* 1(7):24-25.
- Berger, C. N., Brown, D. J., Shaw, R. K., Minuzzi, F., Feys, B. und Frankel, G. (2011). *Salmonella enterica* strains belonging to O serogroup 1,3,19 induce chlorosis and wilting of *Arabidopsis thaliana* leaves. *Environmental Microbiology* 13(5):1299-1308.
- BfR (2011). Bundesinstitut für Risikobewertung. EHEC-Ausbruch 2011. Aufklärung des Ausbruchs entlang der Lebensmittelkette. BfR Wissenschaft.
- BfR (2013). Bundesinstitut für Risikobewertung. Melonen: Gesundheitsgefahr durch Verunreinigung mit pathogenen Bakterien. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://www.bfr.bund.de/cm/343/melonen-gesundheitsgefahr-durch-verunreinigung-mit-pathogenen-bakterien.pdf>.
- BfR (2016). Bundesinstitut für Risikobewertung. Lebensmittelsicherheit. Mikrobielle Risiken von Lebensmittel, Bakterien. Zuletzt aufgerufen am 30.01.16, [http://www.bfr.bund.de/de/gesundheitsliche\\_bewertung\\_von\\_bakterien-54340.html](http://www.bfr.bund.de/de/gesundheitsliche_bewertung_von_bakterien-54340.html).
- Bizzarro, M. J., Dembry, L. M., Baltimore, R. S. und Gallagher, P. G. (2007). Case-control analysis of endemic *Serratia marcescens* bacteremia in a neonatal intensive care unit. *Archives of Disease in Childhood. Fetal and neonatal edition* 92(2):120-126.

- Bowen, A., Fry, A., Richards, G. und Beuchat, L. (2006). Infections associated with cantaloupe consumption: a public health concern. *Epidemiology and Infection* 134(4):675-685.
- Brandl, M. T. (2008). Plant lesions promote the rapid multiplication of *Escherichia coli* O157:H7 on postharvest lettuce. *Applied and Environmental Microbiology* 74(17): 5285-5289.
- Bruker Daltonik GmbH (2014). MALDI Biotyper Protocol Guide. Bremen, Bruker Daltonik GmbH.
- Buchholz, U., Bernard, H., Werber, D., Bohmer, M. M., Remschmidt, C., Wilking, H., Delere, Y., an der Heiden, M., Adlhoch, C., Dreesman, J., Ehlers, J., Ethelberg, S., Faber, M., Frank, C., Fricke, G., Greiner, M., Hohle, M., Ivarsson, S., Jark, U., Kirchner, M., Koch, J., Krause, G., Lubert, P., Rosner, B., Stark, K. und Kuhne, M. (2011). German outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 associated with sprouts. *New England Journal of Medicine* 365(19):1763-1770.
- Byrne, L., Fisher, I., Peters, T., Mather, A., Thomson, N., Rosner, B., Bernard, H., McKeown, P., Cormican, M., Cowden, J., Aiyedun, V. und Lane, C. (2014). On behalf of the International Outbreak Control Team. A multi-country outbreak of *Salmonella* Newport gastroenteritis in Europe associated with watermelon from Brazil, confirmed by whole genome sequencing. *Euro Surveillance* 19(31):20866.
- BVL (2015). Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. Daten zur Lebensmittelüberwachung 2014. Beanstandungsquoten bleiben konstant. Zuletzt aufgerufen am 13.02.16, [https://www.bvl.bund.de/DE/08\\_PresseInfothek/01\\_FuerJournalisten/01\\_Presse\\_und\\_Hintergrundinformationen/01\\_Lebensmittel/2015/2015\\_11\\_23\\_HI\\_Jahrespressekonferenz\\_2015.html](https://www.bvl.bund.de/DE/08_PresseInfothek/01_FuerJournalisten/01_Presse_und_Hintergrundinformationen/01_Lebensmittel/2015/2015_11_23_HI_Jahrespressekonferenz_2015.html).
- Caldwell, K. N., Anderson, G. L., Williams, P. L. und Beuchat, L. R. (2003). Attraction of a free-living nematode, *Caenorhabditis elegans*, to foodborne pathogenic bacteria and its potential as a vector of *Salmonella* Poona for preharvest contamination of cantaloupe. *Journal of Food Protection* 66(11):1964-1971.
- Cantliffe, D. J., Harty, J. M., Shaw, N. L., Sargent, S. A. und Stoffella, P. J. (2009). Greenhouse production of 'Charentais'-type cantaloupes (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*). *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 122:281–285.
- Castillo, A., Mercado, I., Lucia, L. M., Martinez-Ruiz, Y., Ponce de Leon, J., Murano, E. A. und Acuff, G. R. (2004). *Salmonella* contamination during production of cantaloupe: a binational study. *Journal of Food Protection* 67(4):713-720.
- CDC (1991). Centers of Disease Control and Prevention. Epidemiologic notes and reports. Multistate outbreak of *Salmonella* Poona infections - United States and Canada. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 50:549-552.
- CDC (2002). Centers of Disease Control and Prevention. Multistate outbreaks of *Salmonella* serotype Poona infections associated with eating cantaloupe from Mexico - United States and Canada, 2000-2002. Zuletzt aufgerufen am 28.01.2016, <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5146a2.htm>.

- CDC (2006). Centers of Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of *Salmonella* Typhimurium infections linked to tomatoes. Zuletzt aufgerufen am 21.01.16, <http://www.cdc.gov/salmonella/2006/tomatoes-11-2006.html>.
- CDC (2008). Centers of Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of *Salmonella* Litchfield infections linked to cantaloupes. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://www.cdc.gov/salmonella/2008/cantaloupes-4-2-2008.html>.
- CDC (2011a). Centers of Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of listeriosis linked to whole cantaloupes from Jensen Farms, Colorado. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6039a5.htm>.
- CDC (2011b). Centers of Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of *Salmonella* Panama infections linked to cantaloupe. Zuletzt aufgerufen am 21.01.16, <http://www.cdc.gov/salmonella/2011/cantaloupes-6-23-2011.html>.
- CDC (2012). Centers of Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Newport infections linked to cantaloupe. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://www.cdc.gov/salmonella/typhimurium-cantaloupe-08-12/>.
- CDC (2015). Centers of Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of *Salmonella* Poona infections linked to imported cucumbers. Zuletzt aufgerufen am 27.01.16, <http://www.cdc.gov/salmonella/poona-09-15/>.
- CDC (2016). Centers for Disease Control and Prevention. Food Safety. Food Illness A-Z, *Clostridium perfringens*. Zuletzt aufgerufen am 30.01.16, <http://www.cdc.gov/foodsafety/diseases/clostridium-perfringens.html>.
- CDC FOOD Tool (2016). Centers of Disease Control and Prevention. Foodborne outbreak online database. Zuletzt aufgerufen am 21.01.16, <http://wwwn.cdc.gov/foodborneoutbreaks/>.
- Cevallos-Cevallos, J. M., Danyluk, M. D., Gu, G., Vallad, G. E. und van Bruggen, A. H. (2012). Dispersal of *Salmonella* Typhimurium by rain splash onto tomato plants. *Journal of Food Protection* 75(3):472-479.
- Chomicki, G. und Renner, S. S. (2015). Watermelon origin solved with molecular phylogenetics including Linnaean material: another example of museomics. *New Phytologist* 205(2): 526-532.
- Cooley, M. B., Miller, W. G. und Mandrell, R. E. (2003). Colonization of *Arabidopsis thaliana* with *Salmonella enterica* and enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and competition by *Enterobacter asburiae*. *Applied and Environmental Microbiology* 69(8):4915-4926.
- Davies, J. und Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 74(3):417-433.
- De Boer, S. H. und Copeman, R. J. (1974). Endophytic bacterial flora in *Solanum tuberosum* and its significance in bacterial ring rot diagnosis. *Canadian Journal of Plant Science* 54(1):115-122.

- Deering, A. J., Pruitt, R. E., Mauer, L. J. und Reuhs, B. L. (2011). Identification of the cellular location of internalized *Escherichia coli* O157:H7 in mung bean, *Vigna radiata*, by immunocytochemical techniques. *Journal of Food Protection* 74(8):1224-1230.
- Denny, J., Threlfall, J., Takkinen, J., Löfdahl, S., Westrell, T., Varela, C., Adak, B., Boxall, N., Ethelberg, S., Torpdahl, M., Straetemans, M. und van Pelt, W. (2007). Multinational *Salmonella* Paratyphi B variant Java (*Salmonella* Java) outbreak, August – December 2007. *Euro Surveillance* 2007;12(51):pii=3332. Zuletzt aufgerufen am 29.01.16, <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=3332>.
- DGHM (2011). Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie. Veröffentlichte mikrobiologische Richt- und Warnwerte zur Beurteilung von Lebensmitteln. Richt- und Warnwerte für geschnittenes und abgepacktes Obst. Zuletzt aufgerufen am 15.02.16, [http://www.dghm.org/m\\_275](http://www.dghm.org/m_275).
- Dinu, L. D. und Bach, S. (2011). Induction of viable but nonculturable *Escherichia coli* O157:H7 in the phyllosphere of lettuce: a food safety risk factor. *Applied and Environmental Microbiology* 77(23):8295-8302.
- EC (2002). European Commission/Health and Consumer Protection Directorate-General. Risk profile on the microbiological contamination of fruits and vegetables eaten raw. Zuletzt aufgerufen am 13.01.2016, [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out125\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out125_en.pdf).
- ECDC (2012). European Centre for Disease prevention and Control. Surveillance of antimicrobial consumption in Europe. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-consumption-europe-esac-net-2012.pdf>.
- EFSA (2007). European Food Safety Authority. Panel on biological hazards (BIOHAZ) on microbiological criteria and targets based on risk analysis. *EFSA Journal* 462:1-29.
- EFSA (2013). European Food Safety Authority. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations). *EFSA Journal* 2013;11(1):3025.
- EFSA (2014a). European Food Safety Authority. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 2 (*Salmonella* and Norovirus in leafy greens eaten raw as salads). *EFSA Journal* 2014;12(3):3600.
- EFSA (2014b). European Food Safety Authority. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 2 (*Salmonella* in melons). *EFSA Journal* 12(10):3831.
- Erickson, M. C. (2012). Internalization of fresh produce by foodborne pathogens. *Annual Review Food Science Technology* 3:283-310.
- Falkiner, F. R. (1998). The consequences of antibiotic use in horticulture. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 41(4):429-431.

- Fan, X., Annous, B. A., Beaulieu, J. C. und Sites, J. E. (2008). Effect of hot water surface pasteurization of whole fruit on shelf life and quality of fresh-cut cantaloupe. *Journal of Food Science* 73(3):91-98.
- FDA (2015). Food and Drug Administration. Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce: Chapter IV. Outbreaks tables. Outbreaks associated with fresh produce: incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm091270.htm>.
- Fernández, A. I., Villaverde, M., Nicolás, J. A., García-Gómez, A. und Malo, J. (2008). *Pantoea dispersa*: Rhizobacteria Promotora del Crecimiento Vegetal (PGPR). VII Congreso SEAE. Bullas (Murcia), MSc. en Biología, PROBELTE S.A.
- Foodborne Illness Outbreak Database (2016). Zuletzt aufgerufen am 28.01.2016, <http://www.outbreakdatabase.com>.
- FSIS (2000). Food Safety and Inspection Service. Milwaukee County *E. coli* O157:H7 Sizzler restaurant chain outbreak. Zuletzt aufgerufen am 28.01.2016, <http://www.washingtonpost.com/wp-srv/national/outbreak.pdf>.
- Fürnkranz, M., Lukesch, B., Muller, H., Huss, H., Grube, M. und Berg, G. (2012). Microbial diversity inside pumpkins: microhabitat-specific communities display a high antagonistic potential against phytopathogens. *Microbial Ecology* 63(2):418-428.
- Gagliardi, J. V., Millner, P. D., Lester, G. und Ingram, D. (2003). On-farm and postharvest processing sources of bacterial contamination to melon rinds. *Journal of Food Protection* 66(1):82-87.
- Gedek, B. (1980). Kompendium der medizinischen Mykologie. Berlin und Hamburg, Verlag Paul Parey.
- Glassner, H., Zchori-Fein, E., Compant, S., Sessitsch, A., Katzir, N., Portnoy, V. and Yaron, S. (2015). Characterization of endophytic bacteria from cucurbit fruits with potential benefits to agriculture in melons (*Cucumis melo* L.). *FEMS Microbiology Ecology* 91(7).
- GLOBALG.A.P. (2016). Das GLOBALG.A.P. System. Zuletzt aufgerufen am 15.02.16, [http://www.globalgap.org/uk\\_en/what-we-do/the-gg-system/GLOBALG.A.P.-Database/](http://www.globalgap.org/uk_en/what-we-do/the-gg-system/GLOBALG.A.P.-Database/).
- Gobin, M., Launder, N., Lane, C., Kafatos, G. und Adak, B. (2011). Surveillance and outbreak reports. National outbreak of *Salmonella* Java phage type 3B variant 9 infection using parallel case-control and case-case study designs, United Kingdom, July to October 2010. *Euro Surveillance* 16(47).
- Gudesblat, G. E., Torres, P. S. und Vojnov, A. A. (2009). Stomata and pathogens: Warfare at the gates. *Plant Signaling and Behavior* 4(12):1114-1116.
- Guo, X., van Iersel, M. W., Chen, J., Brackett, R. E. und Beuchat, L. R. (2002). Evidence of association of salmonellae with tomato plants grown hydroponically in inoculated nutrient solution. *Applied and Environmental Microbiology* 68(7):3639-3643.



- Gyaneshwar, P., James, E. K., Mathan, N., Reddy, P. M., Reinhold-Hurek, B. und Ladha, J. K. (2001). Endophytic colonization of rice by a diazotrophic strain of *Serratia marcescens*. *Journal of Bacteriology* 183(8):2634-2645.
- Hagiya, H. und Otsuka, F. (2014). *Pantoea dispersa* bacteremia caused by central line-associated bloodstream infection. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 18(6): 696-697.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F. und Kloepper, J. W. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology* 43(10):895-914.
- Harman, G. E. (1983). Mechanisms of seed infection and pathogenesis. Department of Seed and Vegetable Sciences, New York State Agricultural Experiment Station, Geneva 14456; *Phytopathology* 73:326.
- Hartmann, A., Locatelli, A., Amoureux, L., Depret, G., Jolivet, C., Gueneau, E. und Neuwirth, C. (2012). Occurrence of CTX-M producing *Escherichia coli* in soils, cattle, and farm environment in France (Burgundy Region). *Frontiers Microbiology* 3:83.
- Hassan, S. A., Altalhi, A. D., Gherbawy, Y. A. und El-Deeb, B. A. (2011). Bacterial load of fresh vegetables and their resistance to the currently used antibiotics in Saudi Arabia. *Foodborne Pathogens and Disease* 8(9):1011-1018.
- Hetherington, A. M. und Woodward, F. I. (2003). The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424(6951):901-908.
- Heuer, H., Schmitt, H. und Smalla, K. (2011). Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields. *Current Opinion in Microbiology* 14(3):236-243.
- Iniguez, A. L., Dong, Y., Carter, H. D., Ahmer, B. M., Stone, J. M. und Triplett, E. W. (2005). Regulation of enteric endophytic bacterial colonization by plant defenses. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18(2):169-718.
- Jacoby, G. A. und Munoz-Price, L. S. (2005). The new beta-lactamases. *New England Journal of Medicine* 352(4):380-391.
- Jeong, J., Lee, J. und Huber, D. J. (2007). Softening and ripening of 'Athena' cantaloupe (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus*) fruit at three harvest maturities in response to the ethylene antagonist 1-methylcyclopropene. *HortScience* 42(5):1231-1236.
- Kemble, J. M. (1996). Guide to the commercial production of muskmelon (cantaloupe) and related melons. Publication ANR 974. Alabama Cooperative Extension System, Auburn University:12.
- Kim, H. S., Chon, J. W., Kim, Y. J., Kim, D. H., Kim, M. S. und Seo, K. H. (2015). Prevalence and characterization of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in ready-to-eat vegetables. *International Journal of Food Microbiology* 207:83-86.
- Klerks, M. M., Franz, E., van Gent-Pelzer, M., Zijlstra, C. und van Bruggen, A. H. (2007). Differential interaction of *Salmonella enterica* serovars with lettuce cultivars and

- plant-microbe factors influencing the colonization efficiency. The ISME Journal 1(7): 620-631.
- Kroupitski, Y., Brandl, M. T., Pinto, R., Belausov, E., Tamir-Ariel, D., Burdman, S. und Sela Saldinger, S. (2013). Identification of *Salmonella enterica* genes with a role in persistence on lettuce leaves during cold storage by recombinase-based in vivo expression technology. Phytopathology 103(4):362-372.
- Laínez, D. und Krarup, C. (2008). Caracterización en pre y poscosecha de dos cultivares de melón reticulado del tipo Oriental (*Cucumis melo* Grupo Cantalupensis). Ciencia e Investigación Agraria 35:59-66.
- Leifert, C., Ball, K., Volakakis, N. und Cooper, J. M. (2008). Control of enteric pathogens in ready-to-eat vegetable crops in organic and 'low input' production systems: a HACCP-based approach. Journal of Applied Microbiology 105(4):931-950.
- Lopez-Velasco, G., Sbodio, A., Tomas-Callejas, A., Wei, P., Tan, K. H. und Suslow, T. V. (2012). Assessment of root uptake and systemic vine-transport of *Salmonella enterica* sv. Typhimurium by melon (*Cucumis melo*) during field production. International Journal of Food Microbiology 158(1):65-72.
- Lück, E. (2004). Von Abalone bis Zuckerwurz. Exotisches für Gourmets, Hobbyköche und Weltenbummler. Heidelberg, Springer-Verlag. 2. Auflage:316.
- Lugtenberg, B. J. und Dekkers, L. C. (1999). What makes *Pseudomonas* bacteria rhizosphere competent? Environmental Microbiology 1(1):9-13.
- LZE (2016). Landwirtschaftliches Zentrum Ebenrain. Volkswirtschafts- und Gesundheitsdirektion Kanton Basel-Landschaft. Merkblatt für den Hausgarten. Erfolg mit gut geplanten Beeten. Fruchtwechsel. Zuletzt aufgerufen am 20.01.16, <https://www.baseland.ch/fileadmin/baseland/files/docs/vsd/lze/div/gemuese/fruchtwechsel.pdf>.
- Mabagala, R. B. (1997). The effect of populations of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in bean reproductive tissues on seed infection of resistant and susceptible bean genotypes. European Journal of Plant Pathology 103(2):175-181.
- Machado, E., Coque, T. M., Canton, R., Sousa, J. C., Silva, D., Ramos, M., Rocha, J., Ferreira, H. und Peixe, L. (2009). Leakage into Portuguese aquatic environments of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 63(3):616-618.
- Mahaffee, W. F. und Kloepper, J. W. (1997). Temporal changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere, and endorhiza associated with field-grown cucumber (*Cucumis sativus* L.). Microbial Ecology 34(3):210-223.
- McClung, L. S. (1945). Human food poisoning due to growth of *Clostridium perfringens* (*C. welchii*) in freshly cooked chicken: Preliminary note. Journal of Bacteriology 50(2): 229-231.
- McCollum, J. T., Cronquist, A. B., Silk, B. J., Jackson, K. A., O'Connor, K. A., Cosgrove, S., Gossack, J. P., Parachini, S. S., Jain, N. S., Ettestad, P., Ibraheem, M., Cantu, V., Joshi,

- M., DuVernoy, T., Fogg, N. W., Jr., Gorny, J. R., Mogen, K. M., Spires, C., Teitell, P., Joseph, L. A., Tarr, C. L., Imanishi, M., Neil, K. P., Tauxe, R. V. und Mahon, B. E. (2013). Multistate outbreak of listeriosis associated with cantaloupe. *New England Journal of Medicine* 369(10):944-953.
- McCreight, J. D. und Staub, J. (1999). Report of the Cucurbit Working Group. Publications from USDA - Agricultural Research Service / University of Nebraska - Lincoln. *Ecological Effects of Pest Resistance Genes in Managed Ecosystems* 483:79-87.
- McInroy, J. A. und Kloepper, J. W. (1995). Population-dynamics of endophytic bacteria in field-grown sweet corn and cotton. *Canadian Journal of Microbiology* 41(10):895-901.
- McMahon, M. A., Xu, J., Moore, J. E., Blair, I. S. und McDowell, D. A. (2007). Environmental stress and antibiotic resistance in food-related pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 73(1):211-217.
- Melotto, M., Underwood, W. und He, S. Y. (2008). Role of stomata in plant innate immunity and foliar bacterial diseases. *Annual Review Phytopathology* 46:101-122.
- Melotto, M., Underwood, W., Koczan, J., Nomura, K. und He, S. Y. (2006). Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell* 126(5):969-980.
- Misaghi, I. J. und Donndelinger, C. R. (1990). Endophytic bacteria in symptom-free cotton plants. *Phytopathology* 80(9):808-811.
- Mossler, M. A., Fishel, F. M. und Samuel-Foo, M. (2013). Crop profile for watermelons in Florida. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://www.ipmcenters.org/cropprofiles/docs/FLwatermelons2013.pdf>.
- Müller, K. (2013). Untersuchungen zur endophytischen Kontamination von roh verzehrtem Obst und Gemüse durch humanpathogene Bakterien und Ansätze zur Risikominimierung. Masterarbeit. Technische Universität München.
- Mundt, J. O. und Hinkle, N. F. (1976). Bacteria within ovules and seeds. *Applied and Environmental Microbiology* 32(5):694-698.
- Noel, J. T., Arrach, N., Alagely, A., McClelland, M. und Teplitski, M. (2010). Specific responses of *Salmonella enterica* to tomato varieties and fruit ripeness identified by in vivo expression technology. *PLoS One* 5(8):e12406.
- Nunez-Palenius, H. G., Gomez-Lim, M., Ochoa-Alejo, N., Grumet, R., Lester, G. und Cantliffe, D. J. (2008). Melon fruits: genetic diversity, physiology, and biotechnology features. *Critical Reviews in Biotechnology* 28(1):13-55.
- Ölmez, H. und Kretzschmar, U. (2009). Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. *LWT - Food Science and Technology* 42(3):686-693.
- OSDH (2003). Oklahoma State Department of Health. Annual Summary of Infectious Diseases. Zuletzt aufgerufen <https://www.ok.gov/health2/documents/ADS%20-%20STAT%20-%202003%20Annual%20Summary.pdf>.

- Parnell, T. L., Harris, L. J. und Suslow, T. V. (2005). Reducing *Salmonella* on cantaloupes and honeydew melons using wash practices applicable to postharvest handling, foodservice, and consumer preparation. *International Journal of Food Microbiology* 99(1):59-70.
- Pech, J. C., Bouzayen, M. und Latché, A. (2008). Climacteric fruit ripening: Ethylene-dependent and independent regulation of ripening pathways in melon fruit. *Plant Science* 175(1–2):114-120.
- Pérombelon, M. C. M. (2002). Potato diseases caused by soft rot erwinias: an overview of pathogenesis. *Plant Pathology* 51(1):1-12.
- PHAC (2011). Public Health Agency of Canada. Laboratory biosafety and biosecurity. Pathogen safety data sheets and risk assessment. *Clostridium perfringens*. Zuletzt aufgerufen am 30.01.2016, <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/clostridium-perfringens-eng.php>.
- Pilgrim, R. und Petersen, J. (2011). Caribbean melon production and post-harvest manual. Trinidad and Tobago: Food and Agriculture Organization of the United Nations and Caribbean Agricultural Research and Development. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://www.cardi.org/wp-content/uploads/downloads/2013/02/Cbbean-melon-production-post-harvest-manual.pdf>.
- Plotnikova, J. M., Rahme, L. G. und Ausubel, F. M. (2000). Pathogenesis of the human opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* PA14 in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 124(4):1766-1774.
- Prashar, P., Kapoor, N. und Sachdeva, S. (2014). Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 13(1):63-77.
- Quilliam, R. S., Williams, A. P. und Jones, D. L. (2012). Lettuce cultivar mediates both phyllosphere and rhizosphere activity of *Escherichia coli* O157:H7. *PLoS One* 7(3): 33842.
- Reuland, E. A., Al Naiemi, N., Raadsen, S. A., Savelkoul, P. H., Kluytmans, J. A. und Vandenbroucke-Grauls, C. M. (2014). Prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in raw vegetables. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 33(10):1843-1846.
- Richards, G. M. und Beuchat, L. R. (2005a). Metabiotic associations of molds and *Salmonella* Poona on intact and wounded Cantaloupe rind. *International Journal of Food Microbiology* 97(3):327-339.
- Richards, G. M. und Beuchat, L. R. (2005b). Infection of cantaloupe rind with *Cladosporium cladosporioides* and *Penicillium expansum*, and associated migration of *Salmonella* Poona into edible tissues. *International Journal of Food Microbiology* 103(1):1-10.
- Rosenblueth, M. und Martinez-Romero, E. (2006). Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19(8):827-837.

- Roy, D., Panchal, S., Rosa, B. A. und Melotto, M. (2013). *Escherichia coli* O157:H7 induces stronger plant immunity than *Salmonella enterica* Typhimurium SL1344. *Phytopathology* 103(4):326-332.
- Samish, Z., Etinger-Tulczynska, R. und Bick, M. (1961). Microflora within healthy tomatoes. *Applied Microbiology* 9(1):20-25.
- Smalla, K., Oros-Sichler, M., Milling, A., Heuer, H., Baumgarte, S., Becker, R., Neuber, G., Kropf, S., Ulrich, A. und Tebbe, C. C. (2007). Bacterial diversity of soils assessed by DGGE, T-RFLP and SSCP fingerprints of PCR-amplified 16S rRNA gene fragments: do the different methods provide similar results? *Journal of Microbiological Methods* 69, 470-479
- Solomon, E. B., Yaron, S. und Matthews, K. R. (2002). Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Applied and Environmental Microbiology* 68(1): 397-400.
- Staaten Serum Institut (2011). Salmonella outbreak associated with imported tomatoes. Zuletzt aufgerufen am 21.01.16, <http://www.ssi.dk/English/News/News/2011/Salm%20imported%20tomatoes.aspx>.
- Stenfors Arnesen, L. P., Fagerlund, A. und Granum, P. E. (2008). From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiology Reviews* 32(4):579-606.
- Stepansky, A., Kovalski, I. und Perl-Treves, R. (1999). Intraspecific classification of melons (*Cucumis melo* L.) in view of their phenotypic and molecular variation. *Plant Systematics and Evolution* 217(3):313-332.
- Surette, M. A., Sturz, A. V., Lada, R. R. und Nowak, J. (2003). Bacterial endophytes in processing carrots (*Daucus carota* L. var. *sativus*): their localization, population density, biodiversity and their effects on plant growth. *Plant and Soil* 253(2):381-390.
- SVA (2008). National Veterinary Institute. Zoonoses in Sweden in 2008. Zuletzt aufgerufen am 21.01.16, [http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om\\_sva/publikationer/zoonosrapport\\_webb.pdf](http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/zoonosrapport_webb.pdf).
- Tacao, M., Correia, A. und Henriques, I. (2012). Resistance to broad-spectrum antibiotics in aquatic systems: anthropogenic activities modulate the dissemination of *bla*(CTX-M)-like genes. *Applied and Environmental Microbiology* 78(12):4134-4140.
- Thunberg, R. L., Tran, T. T., Bennett, R. W., Matthews, R. N. und Belay, N. (2002). Microbial evaluation of selected fresh produce obtained at retail markets. *Journal of Food Protection* 65(4):677-682.
- Ukuku, D. O. und Fett, W. F. (2002). Relationship of cell surface charge and hydrophobicity to strength of attachment of bacteria to cantaloupe rind. *Journal of Food Protection* 65(7):1093-1099.
- US-FDA (2001). US Food and Drug Administration. Survey of imported fresh produce FY 1999 field assignment. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://www.fda.gov/Food/>

- GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Produce PlantProducts/ucm118891.htm.
- US-FDA (2005). US Food and Drug Administration. Commodity specific food safety guidelines for the melon supply chain. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/UCM168625.pdf>.
- US-FDA (2007). US Food and Drug Administration. Acidified and low-acid canned foods. Approximate pH of foods and food products. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://www.foodscience.caes.uga.edu/extension/documents/fda/approximatephoffoodslacf-phs.pdf>.
- US-FDA (2011). US Food and Drug Administration. Environmental assessment: factors potentially contributing to the contamination of fresh whole cantaloupe implicated in a multistate outbreak of listeriosis. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://www.fda.gov/Food/RecallsOutbreaksEmergencies/Outbreaks/ucm276247.htm>.
- USDA (2016). United States Department of Agriculture. Nutrient Database. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2016, <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods>.
- Whipps, J. M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 52:487-511.
- Winokur, P. L., Canton, R., Casellas, J. M. und Legakis, N. (2001). Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 32(2):94-103.
- Wirth, F. und Goldani, L. Z. (2012). Epidemiology of *Rhodotorula*: an emerging pathogen. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases* 2012:465717.
- Wright, K. M., Chapman, S., McGeachy, K., Humphris, S., Campbell, E., Toth, I. K. und Holden, N. J. (2013). The endophytic lifestyle of *Escherichia coli* O157:H7: quantification and internal localization in roots. *Phytopathology* 103(4):333-340.
- Yang, C. H. und Crowley, D. E. (2000). Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. *Applied and Environmental Microbiology* 66(1):345-351.
- Yousef, A. E. und Carlstrom, C. (2003). Mesophilic aerobic and anaerobic spores. in *The Ohio State University (Hrsg.). Food Microbiology: A Laboratory Manual*. Hoboken, New Jersey, USA, John Wiley & Sons, Inc.: 288.
- Zheng, J., Allard, S., Reynolds, S., Millner, P., Arce, G., Blodgett, R. J. und Brown, E. W. (2013). Colonization and internalization of *Salmonella enterica* in tomato plants. *Applied and Environmental Microbiology* 79(8):2494-2502.

## Rechtsgrundlagen

Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit. ABl. Nr. L 31 S. 1, zuletzt geändert durch Art. 48 ÄndVO (EU) 652/2014 vom 15. 5. 2014 (AbI. Nr. L 189 S. 1).

Verordnung (EG) Nr. 852/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene (AbI. Nr. L 139 S. 1, gesamte Vorschrift ber. AbI. Nr. L 226 S. 3 und AbI. 2008 Nr. L 46 S. 51, ber. AbI. 2009 Nr. L 58 S. 3), zuletzt geändert durch ÄndVO (EG) 219/2009 vom 11. 3. 2009 (AbI. Nr. L 87 S. 109).

Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 der Kommission vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel, (AbI. Nr. L 338 S. 1, ber. AbI. 2006 Nr. L 278 S. 32), zuletzt geändert durch Art. 2 ÄndVO (EU) 2015/2285 vom 8. 12. 2015 (AbI. Nr. L 323 S. 2).

Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) in der Fassung der Bekanntmachung vom 3. Juni 2013 (BGBl. I S. 1426), zuletzt geändert durch Art. 1 VO zur Änd. des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuches sowie anderer Vorschriften vom 26. 1. 2016 (BGBl. I S. 108).

## Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (ASU)

ASU L 00.00-20:2008-12: Untersuchung von Lebensmitteln - Horizontales Verfahren zum Nachweis von *Salmonella* spp. in Lebensmitteln (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 6579, Ausgabe Oktober 2007).

ASU L 00.00-22:2006-09: Untersuchung von Lebensmitteln - Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes* - Teil 2: Zählverfahren (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 11290-2, Ausgabe Januar 2005).

ASU L 00.00-33:2006-09: Untersuchung von Lebensmitteln - Horizontales Verfahren zur Zählung von präsumtiven *Bacillus cereus* - Koloniezählverfahren bei 30 °C (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 7932, Ausgabe März 2004).

ASU L 00.00-32:2006-09: Untersuchung von Lebensmitteln - Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes* - Teil 1: Nachweisverfahren (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 11290-1, Ausgabe Januar 2005).

ASU L 00.00-56:2004-12: Untersuchung von Lebensmitteln - Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) in Lebensmitteln - Teil 2: Verfahren mit Kaninchenplasma/Fibrinogen-Agar (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 6888-2, Ausgabe Dezember 2003).

ASU L 00.00-57:2006-12: Untersuchung von Lebensmitteln - Verfahren zur Zählung von *Clostridium perfringens* in Lebensmitteln - Koloniezählverfahren (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 7937, Ausgabe November 2004).

- ASU L 00.00-88/2:2015-06: Untersuchung von Lebensmitteln - Horizontales Verfahren zur Zählung von Mikroorganismen - Teil 2: Koloniezählung bei 30 °C mittels Oberflächenverfahren (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 4833-2, Ausgabe Mai 2014).
- ASU L 00.00-123: Untersuchung von Lebensmitteln - Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen von Lebensmitteln (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 7218, Ausgabe November 2007).
- ASU L 00.00-132/1:2010-09: Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren für die Zählung von  $\beta$ -Glucuronidase-positiven *Escherichia coli* - Teil 1: Koloniezählverfahren bei 44 °C mit Membranen und 5-Brom-4-Chlor-3-Indol- $\beta$ -D-Glucuronid (ISO 16649-1:2001; DIN ISO 16649-1:2009:12).
- ASU L 00.00-132/2:2010-09: Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren für die Zählung von  $\beta$ -Glucuronidase-positiven *Escherichia coli* - Teil 2: Koloniezählverfahren bei 44 °C mit 5-Brom-4-Chlor-3-Indol- $\beta$ -D-Glucuronid (ISO 16649-2:2001; DIN ISO 16649-2:2009:12).
- ASU L 00.00-133/2:2010-09: Untersuchung von Lebensmitteln - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von *Enterobacteriaceae* in Lebensmitteln - Teil 2: Koloniezähltechnik (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN ISO 21528-2, Ausgabe Dezember 2009).
- ASU L 01.00-37:1991-12: Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung der Anzahl von Hefen und Schimmelpilzen in Milch und Milchprodukten; Referenzverfahren.
- ASU L 06.00-39:1994-05: Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung von mesophilen sulfitreduzierenden Clostridien in Fleisch und Fleischerzeugnissen - Plattengussverfahren (Referenzverfahren) (Übernahme der gleichlautenden Deutschen Norm DIN 10103, Ausgabe August 1993).



## 9 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b>	<i>Einteilung von Cucumis melo innerhalb der Familie Cucurbitaceae (nach McCreight und Staub, 1999 und Chomicki und Renner, 2015).....</i>	<i>2</i>
<b>Abbildung 2:</b>	<i>Hauptanbauländer der nach Europa importierten Melonen mit Angabe des Anteils am Gesamtimport (nach EFSA (EFSA, 2014b; www.weltkarte.com).....</i>	<i>5</i>
<b>Abbildung 3:</b>	<i>Mikrobiologisches Risiko unterschiedlicher Wasserquellen in aufsteigender Reihenfolge (nach Leifert et al., 2008) .....</i>	<i>11</i>
<b>Abbildung 4:</b>	<i>Benetzung der geschälten Oberfläche mit 70 %igem Alkohol und anschließendes Abflammen .....</i>	<i>23</i>
<b>Abbildung 5:</b>	<i>Halbieren der geschälten Melonen nach thermischer Behandlung .....</i>	<i>23</i>
<b>Abbildung 6:</b>	<i>Behandlung der Schnittfläche mit UV-Licht für 30 min .....</i>	<i>23</i>
<b>Abbildung 7:</b>	<i>Geöffnete Cantaloupe-Melone des Reifegrads 1 mit harter Konsistenz, und Druckunempfindlichkeit, sehr trockener Schnittfläche und heller Farbintensität des Fruchtfleisches .....</i>	<i>25</i>
<b>Abbildung 8:</b>	<i>Geöffnete Cantaloupe-Melone des Reifegrads 2 mit schnittfester Oberfläche, leichter Druckempfindlichkeit und optimaler orangener Färbung des Fruchtfleisches ohne Flüssigkeitsaustritt.....</i>	<i>25</i>
<b>Abbildung 9:</b>	<i>Geöffnete Cantaloupe-Melone des Reifegrads 3 mit sehr weicher Konsistenz, Druckempfindlichkeit, Zerstörung des Fruchtfleisches mit Ausbildung einer fadenartigen Struktur, dunkler Farbveränderung und starkem Flüssigkeitsaustritt .....</i>	<i>25</i>
<b>Abbildung 10:</b>	<i>Ablauf der Probenahme und der qualitativen mikrobiologischen Untersuchung der Schale mit Angabe der Zeiten, Temperaturen sowie der verwendeten Nährmedien .....</i>	<i>27</i>
<b>Abbildung 11:</b>	<i>Ablauf der quantitativen mikrobiologischen Untersuchung der Schale mit Angabe der Zeiten, Temperaturen sowie der verwendeten Nährmedien .....</i>	<i>28</i>
<b>Abbildung 12:</b>	<i>Ablauf der Untersuchung der Schale auf E. coli, B. cereus und mesophile Clostridien mit Angabe der Zeiten, Temperaturen sowie der verwendeten Nährmedien .....</i>	<i>29</i>
<b>Abbildung 13:</b>	<i>Ablauf der Probenahme und der qualitativen mikrobiologischen Untersuchung des Fruchtfleisches mit Angabe der Zeiten, Temperaturen sowie der verwendeten Nährmedien.....</i>	<i>30</i>
<b>Abbildung 14:</b>	<i>Ablauf der quantitativen mikrobiologischen Untersuchung des Fruchtfleisches mit Angabe der Zeiten, Temperaturen sowie der verwendeten Nährmedien .....</i>	<i>31</i>

<b>Abbildung 15:</b>	<i>Medianwert der Koloniezahlen aller Parameter des mikrobiologischen Status der Untersuchung der äußeren Schale (n = 147).....</i>	<i>45</i>
<b>Abbildung 16:</b>	<i>Vergleichende Darstellung aller Parameter des mikrobiologischen Status der Schale zwischen den Melonensorten: Cantaloupe (dunkelgrün, linker Boxplot je Parameter) und Galia (hellgrün, rechter Boxplot je Parameter).....</i>	<i>46</i>
<b>Abbildung 17:</b>	<i>Vergleichende Darstellung aller Parameter des mikrobiologischen Status der Schale zwischen den Ursprungsregionen: Südamerika (dunkelgrün, linker Boxplot je Parameter) und Mittelmeer (hellgrün, rechter Boxplot je Parameter).....</i>	<i>47</i>
<b>Abbildung 18:</b>	<i>Darstellung der Koloniezahlen präsumtiver Bacillus cereus auf der äußeren Schale, verteilt nach Melonensorten .....</i>	<i>49</i>
<b>Abbildung 19:</b>	<i>Darstellung der Koloniezahlen sulfitreduzierender mesophiler Clostridien auf der äußeren Schale, verteilt nach Ursprungsregion.....</i>	<i>50</i>
<b>Abbildung 20:</b>	<i>Höchste nachgewiesene Koloniezahlen aller Parameter des mikrobiologischen Status des Fruchtfleisches (n = 147).....</i>	<i>55</i>
<b>Abbildung 21:</b>	<i>Vergleichende Darstellung aller Parameter des mikrobiologischen Status des Fruchtfleisches zwischen den Melonensorten: Cantaloupe (dunkelorange, linker Boxplot je Parameter) und Galia (hellorange, rechter Boxplot je Parameter) .....</i>	<i>56</i>
<b>Abbildung 22:</b>	<i>Vergleichende Darstellung aller Parameter des mikrobiologischen Status des Fruchtfleisches zwischen den Ursprungsregionen: Südamerika (dunkelorange, linker Boxplot je Parameter) und Mittelmeer (hellorange, rechter Boxplot je Parameter) .....</i>	<i>57</i>
<b>Abbildung 23:</b>	<i>Nachgewiesene Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch aller untersuchten Melonen (n = 147), nach Gattungen oder Familien eingeteilt .....</i>	<i>58</i>
<b>Abbildung 24:</b>	<i>Belastung der mit sulfitreduzierenden mesophilen Clostridien im Fruchtfleisch kontaminierten Melonen .....</i>	<i>61</i>
<b>Abbildung 25:</b>	<i>Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch, eingeteilt nach Hefen, Schimmelpilzen, Bakterien entsprechend ihres Phylums, nicht weiter differenzierte grampositive und gramnegative Bakterien sowie nicht identifizierte Mikroorganismen.....</i>	<i>73</i>
<b>Abbildung 26:</b>	<i>Anteil grampositiver und gramnegativer Bakterien sowie nicht identifizierte Mikroorganismen, Schimmelpilze und Hefen aus dem Fruchtfleisch .....</i>	<i>73</i>
<b>Abbildung 27:</b>	<i>Nachgewiesene potentiell pathogene Mikroorganismen der äußeren Schale und des Fruchtfleisches aller untersuchten Melonen (n = 147).....</i>	<i>74</i>

## 10 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b>	<i>Durchschnittliche Nährwerte von Cantaloupe-, Honig- und Wassermelonen pro 100 g Fruchtfleisch (nach USDA, 2016) .....</i>	<i>3</i>
<b>Tabelle 2:</b>	<i>Lebensmittelassoziierte Krankheitsausbrüche in Europa, den USA und Kanada im Zusammenhang mit pflanzlichen Produkten .....</i>	<i>7</i>
<b>Tabelle 3:</b>	<i>Melonen-assoziierte Krankheitsausbrüche in Europa, den USA und Kanada .....</i>	<i>9</i>
<b>Tabelle 4:</b>	<i>Mikrobiologische Richt- und Warnwerte für geschnittenes und abgepacktes Obst zum Ende des Mindesthaltbarkeitsdatums (nach DGHM, 2011; VO (EG) Nr. 2073/2005) .....</i>	<i>14</i>
<b>Tabelle 5:</b>	<i>Endophytisch vorkommende Mikroorganismen in Pflanzen und Früchten (nach Hallmann et al., 1997) .....</i>	<i>16</i>
<b>Tabelle 6:</b>	<i>Eintrittspforten zur Besiedelung von Mikroorganismen in verschiedenen Pflanzenstrukturen .....</i>	<i>17</i>
<b>Tabelle 7:</b>	<i>Anzahl und Herkunft der untersuchten Proben (n = 147) .....</i>	<i>21</i>
<b>Tabelle 8:</b>	<i>Einteilung des Reifegrads für die Beurteilung der Melonen .....</i>	<i>24</i>
<b>Tabelle 9:</b>	<i>Produktinformationen der verwendeten MIC Strip zur Bestätigung von ESBL-bildenden Mikroorganismen .....</i>	<i>32</i>
<b>Tabelle 10:</b>	<i>Methoden und verwendete Nährmedien, Verdünnungen und Anreicherungsbouillons für die Untersuchung der äußeren Schale auf die verschiedenen mikrobiologischen Parameter .....</i>	<i>33</i>
<b>Tabelle 11:</b>	<i>Methoden und verwendete Nährmedien, Verdünnungen und Anreicherungsbouillons für die Untersuchung des Fruchtfleisches auf die verschiedenen mikrobiologischen Parameter .....</i>	<i>34</i>
<b>Tabelle 12:</b>	<i>PCR-Protokoll für die DNA-Amplifikation von L. monocytogenes und Salmonella spp. ....</i>	<i>36</i>
<b>Tabelle 13:</b>	<i>Protokoll für die PCR-Ergebnisauswertung für den Nachweis von L. monocytogenes und Salmonella spp. ....</i>	<i>36</i>
<b>Tabelle 14:</b>	<i>Messparameter der MALDI-Messung (Bruker Daltonik) .....</i>	<i>38</i>
<b>Tabelle 15:</b>	<i>Kriterien für die Identifikation mittels Biotyper OC-Software (Bruker Daltonik) .....</i>	<i>39</i>
<b>Tabelle 16:</b>	<i>Verwendete Materialien und Reagenzien zur DNA-Extraktion .....</i>	<i>39</i>
<b>Tabelle 17:</b>	<i>Verwendete Sequenzierprimer und deren Basenabfolge für die konventionelle 16S-UNI-PCR (Smalla et al., 2007) .....</i>	<i>40</i>
<b>Tabelle 18:</b>	<i>PCR-Master Mix-Ansatz für die Sequenzierung .....</i>	<i>41</i>
<b>Tabelle 19:</b>	<i>16S-UNI-PCR Protokoll für die Sequenzierung .....</i>	<i>41</i>

<b>Tabelle 20:</b>	<i>Mikrobiologischer Status der äußeren Schale aller Melonen in KbE/g ...</i>	<b>45</b>
<b>Tabelle 21:</b>	<i>PCR-positive Proben der Untersuchung der äußeren Schale auf L. monocytogenes.....</i>	<b>48</b>
<b>Tabelle 22:</b>	<i>Melonen mit Wachstum von C. perfringens auf der äußeren Schale mit Angabe zur Score Value der MALDI-Messung.....</i>	<b>51</b>
<b>Tabelle 23:</b>	<i>Nachgewiesenen potentiell ESBL-bildende Enterobacteriaceae (Vorscreening).....</i>	<b>52</b>
<b>Tabelle 24:</b>	<i>Ergebnisse des MIC Strip Tests für Resistenzen gegenüber Cefepim .....</i>	<b>53</b>
<b>Tabelle 25:</b>	<i>PCR-positive Proben der Untersuchung des Fruchtfleisches auf Salmonella spp. ....</i>	<b>59</b>
<b>Tabelle 26:</b>	<i>PCR-positive Proben der Untersuchung des Fruchtfleisches auf L. monocytogenes .....</i>	<b>60</b>
<b>Tabelle 27:</b>	<i>Nachgewiesene B. cereus aus dem Fruchtfleisch von sieben positiven Melonen.....</i>	<b>60</b>
<b>Tabelle 28:</b>	<i>Nachgewiesene sulfitreduzierende mesophile Clostridien aus dem Fruchtfleisch von 63 positiven Melonen .....</i>	<b>62</b>
<b>Tabelle 29:</b>	<i>Nachgewiesene Staphylococcus spp. aus dem Fruchtfleisch von 74 positiven Melonen.....</i>	<b>63</b>
<b>Tabelle 30:</b>	<i>Nachgewiesene Enterobacteriaceae aus dem Fruchtfleisch von 41 positiven Melonen.....</i>	<b>64</b>
<b>Tabelle 31:</b>	<i>Nachgewiesene Micrococcaceae aus dem Fruchtfleisch von 25 positiven Melonen.....</i>	<b>65</b>
<b>Tabelle 32:</b>	<i>Nachgewiesene Bacillaceae aus dem Fruchtfleisch von 22 positiven Melonen.....</i>	<b>66</b>
<b>Tabelle 33:</b>	<i>Nachgewiesene Pseudomonas spp. aus dem Fruchtfleisch von 18 positiven Melonen.....</i>	<b>67</b>
<b>Tabelle 34:</b>	<i>Nicht identifizierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch, eingeteilt nach Melonensorte .....</i>	<b>68</b>
<b>Tabelle 35:</b>	<i>Nachgewiesene Schimmelpilze aus dem Fruchtfleisch von neun positiven Melonen.....</i>	<b>69</b>
<b>Tabelle 36:</b>	<i>Zusammenfassung aller aus dem Fruchtfleisch isolierten Mikroorganismen, nach deren Systematik eingeteilt.....</i>	<b>71</b>
<b>Tabelle 37:</b>	<i>Verwendete flüssige Anreicherungen und Lösungen, sowie Angaben zu deren Herstellung.....</i>	<b>110</b>
<b>Tabelle 38:</b>	<i>Verwendete Nährmedien mit Angaben zur Herstellung.....</i>	<b>111</b>
<b>Tabelle 39:</b>	<i>Verwendete Reagenzien und Kits.....</i>	<b>113</b>

<b>Tabelle 40:</b>	<i>Allgemeine Verbrauchsmaterialien.....</i>	<i>115</i>
<b>Tabelle 41:</b>	<i>Verwendete Geräte für die mikrobiologischen und molekularbiologischen Untersuchungen .....</i>	<i>118</i>
<b>Tabelle 42:</b>	<i>Produktmerkmale der 127 untersuchten Cantaloupe-Melonen bezogen auf Gewicht, Reifegrad und Herkunft sowie Ort und Datum des Erwerbs.....</i>	<i>120</i>
<b>Tabelle 43:</b>	<i>Produktmerkmale der 20 untersuchten Galia-Melonen bezogen auf Gewicht, Reifegrad und Herkunft sowie Ort und Datum des Erwerbs .....</i>	<i>125</i>
<b>Tabelle 44:</b>	<i>Verwendete Methoden für die mikrobiologischen Unter- suchungen der äußeren Schale und des Fruchtfleisches .....</i>	<i>126</i>
<b>Tabelle 45:</b>	<i>Untersuchte Melonen mit Wachstum präsumtiver B. cereus auf der äußeren Schale.....</i>	<i>127</i>
<b>Tabelle 46:</b>	<i>Untersuchte Melonen mit Wachstum sulfitreduzierender mesophiler Clostridien auf der äußeren Schale.....</i>	<i>129</i>
<b>Tabelle 47:</b>	<i>Ergebnisse der Untersuchungen auf verdächtige ESBL-bildende Mikroorganismen (Mac+) und deren Identifizierung .....</i>	<i>132</i>
<b>Tabelle 48:</b>	<i>Untersuchte Melonen mit Wachstum sulfitreduzierender mesophiler Clostridien aus dem Fruchtfleisch .....</i>	<i>135</i>
<b>Tabelle 49:</b>	<i>Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen.....</i>	<i>138</i>

## 11 Anhang

**Tabelle 37:** Verwendete flüssige Anreicherungen und Lösungen, sowie Angaben zu deren Herstellung

Lösungen	Herstellung	Firma	Artikelnr.
<b><u>Verdünnungsflüssigkeit-Röhrchen (VRö)</u></b>			
Pepton aus Fleisch (P)	1 g P + 8,5 g NaCl	Merck KGaA, Deutschland	1.07214.1000
Natriumchlorid (NaCl)	ad 1 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C		1.06404.0500
<b><u>Peptonwasser (gepuffert); nach ISO 6579 (PW)</u></b>			
	25,5 g PW ad 1 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C	Merck KGaA, Deutschland	1.07228.0500
<b><u>FRASER-Listeria-Selektiv-Anreicherungsbouillon halbkonzentriert (1/2FRASER)</u></b>			
	27,5 g Basis ad 1 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C	Merck KGaA, Deutschland	1.10398.0500
<b><u>FRASER-Listeria-Selektiv-Anreicherungsbouillon (FRASER)</u></b>			
Fraser Bouillon	27,5 g Basis	Merck KGaA, Deutschland	1.10398.0500
Selektiv Supplement (Supp.)	+ 1 mL Supp. + 1 mL Am.		1.00093.0010
Amonium-Eisen(III)-Citrat (Am.)	ad 0,5 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C	Alfa Aesar GmbH & Co KG, Deutschland	J60928
<b><u>Salmonella-Anreicherungsbouillon nach RAPPAPORT und VASSILIADIS (RV)</u></b>			
	41,8 g RV-Pulver ad 1 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C	Merck KGaA, Deutschland	1.07700.0500
<b><u>Tryptic Soy Broth plus Cefotaxime (TSB+)</u></b>			
TSB	30 g TSB ad 1 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C	Merck KGaA, Deutschland	1.05459.0500
Cefotaxime sodium salt (C/+)	+ 1 mg C	Alfa Aesar GmbH & Co KG, Deutschland	J62690

A: Autoklav

**Tabelle 38:** Verwendete Nährmedien mit Angaben zur Herstellung

Nährmedien	Herstellung	Firma	Artikelnr.
<b><u>Blutagarplatten (BLUT)</u></b>	Columbia Agar mit Schafblut plus, gebrauchsfertig	OXOID Deutschland GmbH	PB5039A
<b><u>Brilliance Extended Spectrum <math>\beta</math>-Lactamase (ESBL-Agar)</u></b>	gebrauchsfertig	OXOID Deutschland GmbH	PO5133A
<b><u>Chromocult® Tryptone-Bile-Xylose Agar (TBX)</u></b>	31,6 g TBX ad 1 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C	Merck KGaA, Deutschland	1.16122.0500
<b><u>Glucose-Caseinpepton Agar (Glucose-Agar)</u></b>	27 g Glucose-Agar ad 1 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C	Merck KGaA, Deutschland	1.10860.0500
<b><u>Hektoen-Enteric Agar (HE)</u></b>	75 g HE ad 1 L Aqua dest. 10 min quellen in Wasser- oder Dampfbad lösen	Merck KGaA, Deutschland	1.11681.0500
<b><u>Listeria monocytogenes Chromogenic Agar nach Ottaviani und Agosti (ALOA®) (ISO 11290)</u></b>	gebrauchsfertig	bioMérieux Deutschland GmbH	AEB520080
<b><u>MacConkey Nr. 3 plus Cefotaxim (Mac+)</u></b>			
Mac	51,5 g Mac ad 1 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C	OXOID Deutschland GmbH	CM0115
Cefotaxim Natrium Salz (C/ +)	+ 1 mg C	Alfa Aesar GmbH & Co KG, Deutschland	J62690
<b><u>Malz-Extrakt Agar plus Novobiocin (MEA+)</u></b>			
MEA	48 g MEA ad 1 L Aqua dest. A: 10 min, 121 °C	Merck KGaA, Deutschland	1.05398.0500
Novobiocin (Nov/ +)	125 mg Nov	Alfa Aesar GmbH & Co KG, Deutschland	J60928
<b><u>Mannitol-Egg-Yolk-Polymixin Agar (MYP)</u></b>	gebrauchsfertig	OXOID Deutschland GmbH	PO5302A

A: Autoklav

**Fortsetzung Tabelle 38: Verwendete Nährmedien mit Angaben zur Herstellung**

Nährmedien	Herstellung	Firma	Artikelnr.
<b><u>Müller-Hinton Agar (MH)</u></b>			
	38 g MH ad 1 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C	OXOID Deutschland GmbH	CM0337
<b><u>Oxford-Listeria-Selective Agar (Oxford)</u></b>			
Oxford (Basis)	29,25 g Basis ad 0,5 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C	Merck KGaA, Deutschland	1.07004.0500
Supplement für Oxford Agar (Supp.)	+ 2 Supp. (ad 2,5 mL Aqua dest. und 2,5 mL Ethanol pro Supp.)	Merck KGaA, Deutschland	1.07006.0010
<b><u>Plate Count Agar (PC)</u></b>			
	22,5 g PC-Agar ad 1 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C	Merck KGaA, Deutschland	1.05463.0500
<b><u>Tryptose-Sulfite-Cycloserine Agar (TSC)</u></b>			
TSC (Basis)	Gussverfahren/ gebrauchsfertig	bioMérieux	AEB622897
Supplement für TSC	+ 1 Supp. (ad 1mL Aqua dest.)	Deutschland GmbH	42619
<b><u>Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glucose Agar nach MOSSEL (VRBD)</u></b>			
	39,5 g VRBD ad 1 L Aqua dest.	Merck KGaA, Deutschland	1.10275.0500
<b><u>Xylose-Lysin-Desoxycholat Agar (XLD)</u></b>			
	55 g XLD ad 1 L Aqua dest. in Wasser- oder Dampfbad lösen	Merck KGaA, Deutschland	1.05287.0500
<b><u>Yeast-Glucose-Chloramphenicol Agar (YGC)</u></b>			
	40 g YGC ad 1 L Aqua dest. A: 15 min, 121 °C	Merck KGaA, Deutschland	1.16000.0500

A: Autoklav



**Tabelle 39:** Verwendete Reagenzien und Kits

Reagenzien	Firma	Artikelnr.
Gram's Kristallviolet	Merck KGaA, Deutschland	1.092180.2500
Gram's Lugol'sche Lösung	Merck KGaA, Deutschland	1.09261.2500
Gram's Safranin	Merck KGaA, Deutschland	1.09217.2500
Ethanol Rotipuran® ≥ 99,8 %	Carl Roth GmbH & Co KG., Deutschland	90653
0,85 %-ige NaCl Lösung	Merck KGaA, Deutschland	1.106404.1000
Certified™ Molecular Biology Agarose	Bio-Rad GmbH, Deutschland	161-3101
Rothipose® 10x TBE-Puffer Verdünnung: 100 mL TBE-Puffer + 900 mL Aqua dest.	Carl Roth GmbH & Co. KG., Deutschland	3061.2
Hyperlader II - 100 Lanes	Bioline GmbH, Deutschland	H2-109C
5x DNA Loading Buffer, Blue	Bioline GmbH, Deutschland	HLBB-108J
Parafilm „M“ 10 cm x 38 m	BRAND GmbH & Co. KG, Deutschland	5170002
Ethidiumbromidlösung (0,5 µg/mL)	Bio-Rad Laboratories GmbH, Deutschland	161-0433
DNAse freies Wasser (Molecular Biology Grade)	Eppendorf AG, Deutschland	T102161P
Cefepim/ Cefepim+Clavulansäure (4 µg/mL)	Liofilchem® s.r.l., Italien	92161
Cefotaxim/ Cefotaxim+Clavulansäure (4 µg/mL)	Liofilchem® s.r.l., Italien	92160
Ceftazidim/ Ceftazidim+Clavulansäure (4 µg/mL)	Liofilchem® s.r.l., Italien	92159
iQ-Check™ <i>Listeria monocytogenes</i> Kit	Bio-Rad Laboratories GmbH, Deutschland	357-8124
iQ-Check™ <i>Salmonella</i> II Kit	Bio-Rad Laboratories GmbH, Deutschland	357-8123
α-Cyano-4-Hydroxymethylsäure	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deutschland	476870-10G
Acetonitril - Chemsolute®	Th. Geyer GmbH & Co. KG, Deutschland	D4I056014L
Trifluoroessigsäure - J.T.Baker®	Avantor Performance Materials B.V., Niederlande	0000040096
Ameisensäure (Methansäure) 99-100 % - Chemsolute®	Th. Geyer GmbH & Co. KG, Deutschland	2694-1011
Enteropluri-Test with VP	Liofilchem® s.r.l., Italien	78618 / 78619
Lysozym, Egg white	AMRESCO LLC, Vereinigte Staaten von Amerika	0663-10G
Indol 30 mL	Merck KGaA, Deutschland	1.11350.0001

**Fortsetzung Tabelle 39: Verwendete Reagenzien und Kits**

<b>Reagenzien</b>	<b>Firma</b>	<b>Artikelnr.</b>
Phosphate-buffered saline (PBS-Puffer)	bioMérieux GmbH, Deutschland	75 511
GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase Kit	Promega GmbH, Deutschland	M7806
High Pure PCR Template Kit	Roche Diagnostics GmbH, Deutschland	11 796 828 0001
QIAquick® PCR Purification Kit 250	QIAGEN GmbH, Deutschland	28106
Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System	Promega GmbH, Deutschland	A9283
rapid ID 32 A	bioMérieux Deutschland GmbH	32300
DNase freies Wasser (Molecular Biology Grade) - Fluka Analytical®	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deutschland	39253-1L-R
Bactident Oxidase 50 Strips	Merck KGaA, Deutschland	1.13300.0001
Bactident Catalase 30 mL	Merck KGaA, Deutschland	1.11351.0001
Natriumchlorid (NaCl)	Merck KGaA, Deutschland	1.06404.0500

**Tabelle 40:** Allgemeine Verbrauchsmaterialien

<b>Verbrauchsmaterial</b>	<b>Firma</b>	<b>Artikelnr.</b>
Pipette 0,5-10 µL Eppendorf Research	Eppendorf AG, Deutschland	1097723
Pipette 10-100 µL Eppendorf Reference	Eppendorf AG, Deutschland	250942
Pipette 20-200 µL Eppendorf Research	Eppendorf AG, Deutschland	1581835
Pipette 100-1000 µL Eppendorf Reference	Eppendorf AG, Deutschland	4339211
Pipettenspitzen 1 µL farblos	Sarstedt AG & Co, Deutschland	SARS70.1130.600
Pipettenspitzen 10-200 µL	Kisker Biotech GmbH & Co KG., Deutschland	ETY02.B
Pipettenspitzen 100-1000 µL	Kisker Biotech GmbH & Co KG., Deutschland	ETB04.B
Filterpipettenspitzen 0,1-10 µL	Kisker Biotech GmbH & Co KG., Deutschland	A300SX
Filterpipettenspitzen 1-100 µL	Kisker Biotech GmbH & Co KG., Deutschland	A100S
Filterpipettenspitzen 100-1000 µL	Kisker Biotech GmbH & Co KG., Deutschland	A1000S
Eppendorf Quality™ - Eppendorf Safe-Lock Tubes 0,5 mL	Eppendorf AG, Deutschland	0030 121.023
Eppendorf Quality™ - Eppendorf Safe-Lock Tubes 1,5 mL	Eppendorf AG, Deutschland	0030 120.086
PCR-Gefäßstreifen mit optisch klaren, flachen Kappen 0,2 mL	VWR International GmbH, Deutschland	211-0338
Medizinische Untersuchungshandschuhe	VWR International GmbH, Deutschland	112-1879
Sempercure® Handschuhe Ecam gepudert steril	Semperit Aktiengesellschaft Holding, Österreich	SEMP826152627
Ständer f.1 Stomacherbeutel 400 -Bag Open-	Meintrup dws Laborgeräte GmbH, Deutschland	ME001502
Homogenisationsbeutel mit seitliche Filter 400 mL	VWR International GmbH, Deutschland	129-0733
Erlenmeyer Kolben 100 mL, Weithals	VWR International GmbH, Deutschland	214-1171
Erlenmeyer Kolben 1000 mL, Enghals	VWR International GmbH, Deutschland	214-1134
Reagenzglas, geradem Rand 130 mm	VWR International GmbH, Deutschland	212-0318
Becherglas 350 mL, niedere Form	VWR International GmbH, Deutschland	213-1124

**Fortsetzung Tabelle 40: Allgemeine Verbrauchsmaterialien**

<b>Verbrauchsmaterial</b>	<b>Firma</b>	<b>Artikelnr.</b>
Becherglas 600 mL, niedrige Form	VWR International GmbH, Deutschland	213-1126
LLG-Pinzetten, 18/10 Stahl 145 mm	Th. Geyer GmbH & Co. KG., Deutschland	6.255.826
Chirurgische Scheren, rostfreier Stahl 130 mm	Th. Geyer GmbH & Co. KG., Deutschland	9.204.220
Laborlöffel, 18/10 - Stahl 180 mm	Th. Geyer GmbH & Co. KG., Deutschland	9.150.218
Messer 200 mm	Carl Roth GmbH & Co KG., Deutschland	A577.1
Skalpellklingen steril	Carl Roth GmbH & Co KG., Deutschland	3608.1
Skalpelle - Stahl, verchromt	Carl Roth GmbH & Co KG., Deutschland	3607.1
Magnetrührstäbchen 25 mm, zylindrisch	VWR International GmbH, Deutschland	442-4525
Flaschenaufsatz-Dispenser 2-10 mL	VWR International GmbH, Deutschland	612-4750
Normalsterile Petrischalen	CLN GmbH, Deutschland	G-633 180
Drigalski-Spatel, Dreieck, Edelstahl 165 mm x 40 mm	Carl Roth GmbH & Co KG., Deutschland	AL98.1
Impfösenhalter 240 mm	Zefa Laborservice GmbH, Deutschland	33 31 86442
Platindraht 1,0 mm Ø	Zefa Laborservice GmbH, Deutschland	33 01 23304
Impfösen Platin-Iridium 3 mm Ø	Zefa Laborservice GmbH, Deutschland	33 31 00003
Schneidebrett Polyethilen 610 mm x 460 mm x 25 mm	Zefa Laborservice GmbH, Deutschland	10 05 12616
Impfeschlinge leicht, 1 µL, steril	VWR International GmbH, Deutschland	612-9355
Instrumententabletts 43 cm x 29 cm x 2 cm	Zefa Laborservice GmbH, Deutschland	23 01 23850
Instrumentenschale 360 mm x 300 mm x 40 mm	Zefa Laborservice GmbH, Deutschland	10 05 08634
Objektträger mit Mattrand	Gerhard Menzel GmbH, Deutschland	5161145
Deckgläser 24 x 24 mm	Süsse Labortechnik GmbH & Co. KG., Deutschland	5428393
Immersionsöl	Merck KGaA, Deutschland	1.15577.0100
AnaeroGen Compact	Oxoid Deutschland GmbH	AN0010C
AnaeroGen 2,5 L	Oxoid Deutschland GmbH	AN0025A
Anaerotest-Indikatorstreifen	Merck KGaA, Deutschland	1.15112.0001

**Fortsetzung Tabelle 40: Allgemeine Verbrauchsmaterialien**

<b>Verbrauchsmaterial</b>	<b>Firma</b>	<b>Artikelnr.</b>
Anaerobentopf 2,5L-Volumen	VWR International GmbH, Deutschland	1.16387.0001
Wattestäbchen steril mit Holzstab	Zefa Laborservice GmbH, Deutschland	10019036
Fusselfreies Tuch - Light-Duty Tissue Wipers	VWR International GmbH, Deutschland	115-0202
RIDASCREEN® Probenahme Zubehör - 100 Wattestäbchen	R-Biopharm AG, Deutschland	Z00104004
Eppendorf UVETTE 50 µL DNA, RNA, Protein-frei	Eppendorf AG, Deutschland	634-1921
Glasperlen 2 mm	Merck KGaA, Deutschland	1.04014.0500
Kryobank Röhrchen	Bestbion dx GmbH, Deutschland	02B01005

**Tabelle 41:** *Verwendete Geräte für die mikrobiologischen und molekularbiologischen Untersuchungen*

<b>Geräte</b>	<b>Firma</b>	<b>Artikelnr.</b>
Präzisionswaage CP 3202S-OCE	Sartorius AG, Deutschland	16407380
Stomacher Bagmixer	Interscience, Frankreich	50615704
Gasbrenner Fireboy S 1000	ibs Tecnomara GmbH, Deutschland	8901C767
Gasbrenner Gasprofi 1 SCS micro	WLD-TEC GmbH, Deutschland	413773
Vortex-Mixer scientifica 2x <sup>3</sup>	VELP scientifica, Italien	12505
Zentrifuge MiniSpin® plus	Eppendorf AG, Deutschland	18448
Magnetrührer RCT B	IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Deutschland	01.354371
Thermomixer Comfort	Eppendorf AG, Deutschland	535525767
Brutschrank Heraeus Incubator B 6420	Heraeus Holding GmbH, Deutschland	41182503
Sicherheitswerkbank Heraeus® Klasse 2 Typ H	Heraeus Holding GmbH, Deutschland	40321959
Kühl-Gefrierkombi Liebherr Comfort NoFrost	Liebherr-International Deutschland GmbH	22.629.450.4
Microwelle micromaxx® MM 6460	MTC Medion Technologie Center, Deutschland	D40724512602
iQ™5 Optical Module	Bio-Rad Laboratories GmbH, Deutschland	575BR0447
iQCycler™ Thermal Cycler	Bio-Rad Laboratories GmbH, Deutschland	582BR014182
Thermal Cycler - iCycler	Bio-Rad Laboratories GmbH, Deutschland	582BR013489
Magnetrührer monotherm VARIOMAG®	Thermo Fisher Scientific Germany BV & Co KG.	406570
Biophotometer 6131	Eppendorf AG, Deutschland	6131 22555
Mikroskop Leica 982	Leica Microsystems GmbH, Deutschland	800
Mikro-Kamera moticam 2300	Robert Kind GmbH, Deutschland	S/N 015056m
Mikroskop 377-976D	Robert Kind GmbH, Deutschland	50014
Wasserbad W 270	Memmert GmbH & Co. KG, Deutschland	800256
MTP 384 Target plate ground steel BC	Bruker Daltonic GmbH, Deutschland	8280784
MTP 384 Target plate polished steel BC	Bruker Daltonic GmbH, Deutschland	8280781
Bruker Autoflex Speed MALDI TOF/TOF Mass Spectrometer	Bruker Daltonic GmbH, Deutschland	-
Gel Doc™ XR	Bio-Rad Laboratories GmbH, Deutschland	1273
Ultraschallreiniger TP 670/H	Elma Schmidbauer GmbH, Deutschland	900362112 HF
Sub-Cell® GT Agarose Gel Electrophoresis System	Bio-Rad Laboratories GmbH	62S51782

**Fortsetzung Tabelle 41:** *Verwendete Geräte für die mikrobiologischen und molekularbiologischen Untersuchungen*

<b>Geräte</b>	<b>Firma</b>	<b>Artikelnr.</b>
Centrifuge Eppendorf 5424	Eppendorf AG, Deutschland	0002967
Tissue Lyser	QIAGEN GmbH, Deutschland	125040144
Elektrophoresis Power Supply	Bio-Rad Laboratories GmbH, Deutschland	041BR17704
Gel Doc™ XR	Bio-Rad Laboratories GmbH, Deutschland	1273
DENSIMAT (MacFarland Standard)	bioMérieux Deutschland GmbH	IDN013204

**Tabelle 42:** Produktmerkmale der 127 untersuchten Cantaloupe-Melonen bezogen auf Gewicht, Reifegrad und Herkunft sowie Ort und Datum des Erwerbs

Melone Nr.	Gewicht [Kg]	Reifegrad	Datum	Herkunftsland	Handel
1	1,412	2	30.10.14	Brasilien	Großhandel
2	1,364	1	30.10.14	Brasilien	Großhandel
3	1,410	1	30.10.14	Brasilien	Großhandel
4	1,370	1	30.10.14	Brasilien	Großhandel
5	1,427	2	03.11.14	Brasilien	Großhandel
6	1,352	2	03.11.14	Brasilien	Großhandel
7	1,275	3	03.11.14	Brasilien	Großhandel
8	1,398	3	03.11.14	Brasilien	Großhandel
9	1,332	2	10.11.14	Brasilien	Großhandel
10	1,315	1	10.11.14	Brasilien	Großhandel
11	1,296	1	10.11.14	Brasilien	Großhandel
12	1,117	3	10.11.14	Brasilien	Großhandel
13	1,591	2	21.01.15	Brasilien	Großhandel
14	1,668	1	21.01.15	Brasilien	Großhandel
15	1,702	1	21.01.15	Brasilien	Großhandel
16	1,624	2	21.01.15	Brasilien	Großhandel
17	1,365	2	28.01.15	Brasilien	Großhandel
18	1,267	2	28.01.15	Brasilien	Großhandel
19	1,412	2	28.01.15	Brasilien	Großhandel
20	1,391	2	28.01.15	Brasilien	Großhandel
21	1,382	2	04.02.15	Brasilien	Großhandel
22	1,561	1	04.02.15	Brasilien	Großhandel
23	1,579	1	04.02.15	Brasilien	Großhandel
24	1,545	2	04.02.15	Brasilien	Großhandel
25	1,377	2	11.02.15	Brasilien	Großhandel
26	1,188	1	11.02.15	Brasilien	Großhandel
27	1,155	2	11.02.15	Brasilien	Großhandel
28	1,708	3	23.02.15	Brasilien	Großhandel
29	1,680	1	23.02.15	Brasilien	Großhandel
30	1,712	2	23.02.15	Brasilien	Großhandel
31	1,406	2	23.02.15	Brasilien	Großhandel
32	1,609	2	23.02.15	Brasilien	Großhandel



**Fortsetzung Tabelle 42:** Produktmerkmale der 127 untersuchten Cantaloupe-Melonen bezogen auf Gewicht, Reifegrad und Herkunft sowie Ort und Datum des Erwerbs

Melone Nr.	Gewicht [Kg]	Reifegrad	Datum	Herkunftsland	Handel
33	0,966	2	09.03.15	Honduras	Großhandel
34	1,078	2	09.03.15	Honduras	Großhandel
35	0,874	2	09.03.15	Honduras	Großhandel
36	0,923	2	09.03.15	Honduras	Großhandel
37	1,610	2	25.03.15	Honduras	Einzelhandel
38	1,239	1	25.03.15	Honduras	Einzelhandel
39	1,257	3	25.03.15	Honduras	Einzelhandel
40	1,408	1	25.03.15	Honduras	Einzelhandel
41	1,587	2	09.04.15	Honduras	Einzelhandel
42	1,416	2	09.04.15	Honduras	Einzelhandel
43	1,444	2	09.04.15	Honduras	Einzelhandel
44	1,697	3	09.04.15	Honduras	Einzelhandel
45	1,679	1	13.04.15	Honduras	Einzelhandel
46	1,527	2	13.04.15	Honduras	Einzelhandel
47	1,548	1	13.04.15	Honduras	Einzelhandel
48	1,388	1	13.04.15	Honduras	Einzelhandel
49	0,902	3	20.04.15	Honduras	Einzelhandel
50	1,001	3	20.04.15	Honduras	Einzelhandel
51	0,778	3	20.04.15	Honduras	Einzelhandel
52	0,934	3	20.04.15	Honduras	Einzelhandel
53	0,655	3	28.04.15	Costa Rica	Einzelhandel
54	0,683	3	28.04.15	Costa Rica	Einzelhandel
55	0,643	3	28.04.15	Costa Rica	Einzelhandel
56	0,590	3	28.04.15	Costa Rica	Einzelhandel
57	0,662	3	04.05.15	Costa Rica	Einzelhandel
58	0,705	3	04.05.15	Costa Rica	Einzelhandel
59	0,648	3	04.05.15	Costa Rica	Einzelhandel
60	0,711	3	04.05.15	Costa Rica	Einzelhandel
61	1,117	2	12.05.15	Costa Rica	Einzelhandel
62	1,103	2	12.05.15	Costa Rica	Einzelhandel
63	1,113	2	12.05.15	Costa Rica	Einzelhandel

**Fortsetzung Tabelle 42:** Produktmerkmale der 127 untersuchten Cantaloupe-Melonen bezogen auf Gewicht, Reifegrad und Herkunft sowie Ort und Datum des Erwerbs

Melone Nr.	Gewicht [Kg]	Reifegrad	Datum	Herkunftsland	Handel
64	1,530	2	12.05.15	Costa Rica	Einzelhandel
65	0,775	2	18.05.15	Marokko	Einzelhandel
66	0,773	3	18.05.15	Marokko	Einzelhandel
67	0,823	2	18.05.15	Marokko	Einzelhandel
68	0,751	2	18.05.15	Marokko	Einzelhandel
69	0,846	2	26.05.15	Spanien	Einzelhandel
70	0,937	2	26.05.15	Spanien	Einzelhandel
71	0,962	2	26.05.15	Spanien	Einzelhandel
72	0,889	2	26.05.15	Spanien	Einzelhandel
73	0,684	1	28.05.15	Marokko	Einzelhandel
74	0,745	1	28.05.15	Marokko	Einzelhandel
75	0,684	1	28.05.15	Marokko	Einzelhandel
76	0,632	1	28.05.15	Marokko	Einzelhandel
77	1,032	1	03.06.15	Spanien	Einzelhandel
78	1,034	1	03.06.15	Spanien	Einzelhandel
79	1,021	2	03.06.15	Marokko	Einzelhandel
80	1,015	3	03.06.15	Marokko	Einzelhandel
81	0,732	2	08.06.15	Italien	Einzelhandel
82	0,930	3	08.06.15	Italien	Einzelhandel
83	1,013	2	08.06.15	Italien	Einzelhandel
84	1,057	3	08.06.15	Italien	Einzelhandel
85	0,741	1	10.06.15	Spanien	Einzelhandel
86	0,763	1	10.06.15	Spanien	Einzelhandel
87	0,914	1	10.06.15	Spanien	Einzelhandel
88	0,813	1	10.06.15	Spanien	Einzelhandel
89	1,345	2	15.06.15	Italien	Großhandel
90	1,207	2	15.06.15	Italien	Großhandel
91	1,178	2	15.06.15	Italien	Großhandel
92	1,398	1	15.06.15	Italien	Großhandel
93	1,201	2	18.06.15	Italien	Großhandel
94	0,914	1	18.06.15	Italien	Großhandel

**Fortsetzung Tabelle 42:** Produktmerkmale der 127 untersuchten Cantaloupe-Melonen bezogen auf Gewicht, Reifegrad und Herkunft sowie Ort und Datum des Erwerbs

Melone Nr.	Gewicht [Kg]	Reifegrad	Datum	Herkunftsland	Handel
95	1,084	2	18.06.15	Italien	Großhandel
96	1,055	2	18.06.15	Italien	Großhandel
97	1,095	1	18.06.15	Italien	Großhandel
98	0,934	1	22.06.15	Italien	Großhandel
99	1,086	2	22.06.15	Italien	Großhandel
100	1,097	2	22.06.15	Italien	Großhandel
101	0,801	1	22.06.15	Spanien	Einzelhandel
102	0,732	1	22.06.15	Spanien	Einzelhandel
103	1,227	3	25.06.15	Spanien	Einzelhandel
104	1,156	3	25.06.15	Spanien	Einzelhandel
105	1,202	3	25.06.15	Spanien	Einzelhandel
106	1,053	2	25.06.15	Spanien	Einzelhandel
107	0,940	2	25.06.15	Spanien	Einzelhandel
108	1,388	2	29.06.15	Italien	Großhandel
109	0,984	2	29.06.15	Italien	Großhandel
110	1,380	2	29.06.15	Italien	Großhandel
111	1,092	1	29.06.15	Italien	Großhandel
112	1,645	2	29.06.15	Spanien	Einzelhandel
113	1,588	1	30.06.15	Spanien	Einzelhandel
114	1,455	2	30.06.15	Spanien	Einzelhandel
115	2,033	3	06.07.15	Spanien	Einzelhandel
116	1,915	3	06.07.15	Spanien	Einzelhandel
117	2,116	2	06.07.15	Spanien	Einzelhandel
118	1,936	2	06.07.15	Spanien	Einzelhandel
119	1,977	3	06.07.15	Spanien	Einzelhandel
120	1,172	2	27.07.15	Spanien	Einzelhandel
121	1,424	1	27.07.15	Spanien	Einzelhandel
122	1,167	2	27.07.15	Spanien	Einzelhandel
123	1,383	1	27.07.15	Spanien	Einzelhandel
124	1,531	2	13.08.15	Spanien	Einzelhandel
125	1,299	3	13.08.15	Spanien	Einzelhandel

**Fortsetzung Tabelle 42:** Produktmerkmale der 127 untersuchten Cantaloupe-Melonen bezogen auf Gewicht, Reifegrad und Herkunft sowie Ort und Datum des Erwerbs

Melone Nr.	Gewicht [Kg]	Reifegrad	Datum	Herkunftsland	Handel
126	1,352	1	13.08.15	Spanien	Einzelhandel
127	1,363	1	13.08.15	Spanien	Einzelhandel

**Tabelle 43:** Produktmerkmale der 20 untersuchten Galia Melonen bezogen auf Gewicht, Reifegrad und Herkunft sowie Ort und Datum des Erwerbs

Melonen Nr.	Gewicht [Kg]	Reifegrad	Datum	Herkunftsland	Handel
1	1,244	2	26.11.14	Brasilien	Großhandel
2	1,255	3	26.11.14	Brasilien	Großhandel
3	1,263	2	26.11.14	Brasilien	Großhandel
4	1,240	3	26.11.14	Brasilien	Großhandel
5	1,273	3	19.02.15	Honduras	Großhandel
6	1,417	3	19.02.15	Honduras	Großhandel
7	1,269	3	19.02.15	Honduras	Großhandel
8	1,221	3	19.02.15	Honduras	Großhandel
9	1,411	3	19.02.15	Honduras	Großhandel
10	0,821	3	21.05.15	Spanien	Einzelhandel
11	0,784	1	21.05.15	Spanien	Einzelhandel
12	0,822	2	21.05.15	Spanien	Einzelhandel
13	0,795	2	21.05.15	Spanien	Einzelhandel
14	1,103	2	29.06.15	Spanien	Großhandel
15	1,107	3	30.06.15	Spanien	Großhandel
16	1,083	2	30.06.15	Spanien	Großhandel
17	1,264	2	07.09.15	Italien	Einzelhandel
18	1,399	2	07.09.15	Italien	Einzelhandel
19	1,296	2	07.09.15	Italien	Einzelhandel
20	1,396	1	07.09.15	Italien	Einzelhandel

**Tabelle 44:** Verwendete Methoden für die mikrobiologischen Untersuchungen der äußeren Schale und des Fruchtfleisches

Mikrobiologische Untersuchung	Methode	Modifikation
Aerobe mesophile Keime	DIN EN ISO 4833 2013-12	-
Anaerobe mesophile Keime	DIN EN ISO 4833 2013-12	Anaerobiose
Aerobe psychrotolerante Keime	DIN EN ISO 4833 2013-12	10 °C/ 10 d
Anaerobe psychrotolerante Keime	DIN EN ISO 4833 2013-12	10 °C/ 10 d Anaerob
Mesophile Hefen und Schimmelpilze	ASU L 01.00-37 1991-12	Pflanzliche Produkte
Psychrotolerante Hefen	Hausmethode	MEA+/ 10 °C/ 10 d
<i>Enterobacteriaceae</i>	ASU L 00.00-133/2 2010-09	Spatelverfahren Anaerobiose
<i>Escherichia coli</i>	DIN EN ISO 16649-2 2009-12 ASU L 00.00-132/2 2010-09	-
<i>Salmonella</i> spp.	ASU L 00.00-20 2008-12	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	ASU L 00.00-32 2006-09	-
<i>Bacillus cereus</i>	ASU L 00.00-33 2006-09 Berichtigung 2006-12	-
Mesophile Clostridien	ASU L 00.00-57 2006-12	-
Sterilitäts-Kontrolle	Hausmethode	Blut/ 30 °C/24 h Aerobiose und Anaerobiose
Aerobe mesophile Keime auf BLUT	Hausmethode	BLUT/ 37 °C/ 24 h
Anaerobe mesophile Keime auf BLUT	Hausmethode	BLUT/ 37 °C/ 24 h Anaerobiose
Aerobe psychrotolerante Keime auf BLUT	Hausmethode	BLUT/ 10 °C/ 10 d
Anaerobe psychrotolerante Keime auf BLUT	Hausmethode	BLUT/ 10 °C/ 10 d Anaerobiose

d: Tag // h: Stunden

ASU: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren // DIN: Deutsches Institut für Normung

EN: Europäische Norm // ISO: International Organization of Standardization

**Tabelle 45:** *Untersuchte Melonen mit Wachstum präsumtiver B. cereus auf der äußeren Schale*

Melone Nr.	Reifegrad	Herkunftsland	Koloniezahl [KbE/g]
1	2	Brasilien	1,50E+03
2	1	Brasilien	1,00E+03
3	1	Brasilien	5,00E+01
4	1	Brasilien	1,50E+02
5	2	Brasilien	2,50E+03
6	2	Brasilien	5,00E+02
7	3	Brasilien	2,00E+03
8	3	Brasilien	1,00E+03
10	1	Brasilien	1,00E+02
13	2	Brasilien	2,27E+02
14	1	Brasilien	3,18E+02
15	1	Brasilien	2,38E+02
16	2	Brasilien	2,00E+02
17	2	Brasilien	5,00E+01
18	2	Brasilien	1,42E+02
19	2	Brasilien	3,50E+02
20	2	Brasilien	2,00E+02
21	2	Brasilien	5,00E+01
23	1	Brasilien	1,90E+02
25	2	Brasilien	5,00E+01
26	1	Brasilien	1,00E+02
27	2	Brasilien	1,00E+02
28	3	Brasilien	1,42E+02
29	2	Brasilien	1,00E+02
53	3	Costa Rica	1,60E+04
54	3	Costa Rica	6,50E+02
55	3	Costa Rica	1,25E+04
56	3	Costa Rica	1,00E+02
57	3	Costa Rica	5,00E+02
58	3	Costa Rica	5,77E+03
59	3	Costa Rica	4,64E+03
60	3	Costa Rica	1,15E+04
70	2	Spanien	5,00E+02

KbE: Koloniebildende Einheiten // Ga: Galia

**FortsetzungTabelle 45:** *Untersuchte Melonen mit Wachstum präsumtiver B. cereus auf der äußeren Schale*

Melone Nr.	Reifegrad	Herkunftsland	Koloniezahl [KbE/g]
73	1	Marokko	5,00E+01
74	1	Marokko	1,00E+02
75	1	Marokko	2,00E+03
76	1	Marokko	5,00E+01
82	3	Italien	5,00E+01
87	1	Spanien	5,00E+01
89	2	Italien	1,50E+02
90	2	Italien	1,00E+02
91	2	Italien	1,50E+02
92	1	Italien	2,00E+02
93	2	Italien	1,00E+02
95	2	Italien	2,86E+02
96	2	Italien	5,55E+04
98	1	Italien	5,00E+02
99	2	Italien	1,82E+02
100	2	Italien	2,50E+02
101	1	Spanien	2,55E+03
103	3	Spanien	6,00E+02
104	3	Spanien	2,00E+02
105	3	Spanien	2,73E+02
106	2	Spanien	1,50E+02
107	2	Spanien	1,50E+02
111	1	Italien	3,64E+02
120	2	Spanien	1,00E+02
123	1	Spanien	8,57E+02
126	1	Spanien	1,50E+02
2Ga	3	Brasilien	2,27E+02
3Ga	2	Brasilien	5,00E+02
4Ga	3	Brasilien	1,00E+02
16Ga	2	Spanien	5,00E+01

KbE: Koloniebildende Einheiten // Ga: Galia



**Tabelle 46:** Untersuchte Melonen mit Wachstum sulfitreduzierender mesophiler Clostridien auf der äußeren Schale

Melone Nr.	Reifegrad	Herkunftsland	Koloniezahl Clostridien [KbE/g]	Nachweis <i>C. perfringens</i>
13	2	Brasilien	1,50E+01	-
14	1	Brasilien	5,00E+00	-
16	2	Brasilien	1,00E+01	-
21	2	Brasilien	5,00E+00	-
22	1	Brasilien	1,00E+01	-
23	1	Brasilien	1,50E+01	-
24	2	Brasilien	1,00E+01	-
29	2	Brasilien	5,00E+00	-
34	2	Honduras	5,00E+00	-
36	2	Honduras	1,50E+01	-
37	2	Honduras	2,30E+01	-
38	1	Honduras	5,00E+00	-
39	3	Honduras	2,70E+01	-
41	2	Honduras	2,38E+01	-
42	2	Honduras	5,45E+01	-
43	2	Honduras	1,50E+01	-
44	3	Honduras	3,33E+01	-
49	3	Honduras	1,00E+01	+
50	3	Honduras	4,76E+01	+
56	3	Costa Rica	5,00E+00	-
59	3	Costa Rica	5,00E+00	-
60	3	Costa Rica	5,00E+00	-
73	1	Marokko	2,34E+04	+
74	1	Marokko	9,37E+03	-
76	1	Marokko	1,79E+04	-
77	1	Spanien	6,82E+01	-
78	1	Spanien	4,55E+01	-
79	2	Marokko	1,00E+02	-

+ Bestätigung von *Clostridium perfringens* // - Andere Mikroorganismen der Gattung *Clostridium* spp.  
KbE: Koloniebildende Einheiten

**Fortsetzung Tabelle 46:** Untersuchte Melonen mit Wachstum sulfitreduzierender mesophiler Clostridien auf der äußeren Schale

Melone Nr.	Reifegrad	Herkunftsland	Koloniezahl Clostridien [KbE/g]	Nachweis <i>C. perfringens</i>
80	3	Marokko	3,64E+01	-
81	2	Italien	2,27E+01	+
82	3	Italien	2,50E+01	-
83	2	Italien	3,64E+01	-
84	3	Italien	3,64E+01	-
85	1	Spanien	5,00E+00	-
86	1	Spanien	3,18E+01	-
87	1	Spanien	3,18E+01	+
88	1	Spanien	2,27E+01	-
89	2	Italien	1,50E+02	-
90	2	Italien	1,00E+01	-
91	2	Italien	2,38E+01	-
92	1	Italien	1,50E+02	-
93	2	Italien	2,86E+01	-
94	1	Italien	2,86E+01	-
95	2	Italien	4,17E+01	-
96	2	Italien	1,50E+02	-
97	1	Italien	1,50E+02	-
98	1	Italien	1,50E+02	-
99	2	Italien	5,91E+01	-
100	2	Italien	2,50E+02	-
101	1	Spanien	4,09E+01	-
102	1	Spanien	4,55E+01	-
103	3	Spanien	6,19E+02	-
104	3	Spanien	5,00E+02	-
105	3	Spanien	4,55E+02	-
106	2	Spanien	2,00E+03	-
107	2	Spanien	3,18E+02	-

+ Bestätigung von *Clostridium perfringens* // - Andere Mikroorganismen der Gattung *Clostridium* spp.  
KbE: Koloniebildende Einheiten

**Fortsetzung Tabelle 46:** Untersuchte Melonen mit Wachstum sulfitreduzierender mesophiler Clostridien auf der äußeren Schale

Melone Nr.	Reifegrad	Herkunftsland	Koloniezahl Clostridien [KbE/g]	Nachweis <i>C. perfringens</i>
108	2	Italien	1,82E+01	-
109	2	Italien	1,82E+01	-
110	2	Italien	4,09E+01	-
111	1	Italien	3,64E+01	+
112	2	Spanien	3,18E+01	-
113	1	Spanien	4,55E+01	-
114	2	Spanien	5,00E+01	-
115	3	Spanien	1,90E+01	-
116	3	Spanien	2,73E+01	-
117	2	Spanien	1,50E+02	-
119	3	Spanien	2,00E+01	+
120	2	Spanien	1,55E+02	-
121	1	Spanien	1,95E+02	-
122	2	Spanien	1,64E+02	-
123	1	Spanien	1,59E+02	-
124	2	Spanien	7,27E+01	-
125	3	Spanien	1,23E+02	-
126	1	Spanien	7,62E+01	-
127	1	Spanien	9,55E+01	-
11Ga	1	Spanien	1,00E+01	-
14Ga	2	Spanien	2,00E+02	-
15Ga	3	Spanien	4,55E+01	-
16Ga	2	Spanien	2,50E+02	-
17Ga	2	Italien	2,00E+02	-
18Ga	2	Italien	2,00E+02	-
19Ga	2	Italien	2,00E+02	-
20Ga	1	Italien	2,50E+02	-

+ Bestätigung von *Clostridium perfringens* // - Andere Mikroorganismen der Gattung *Clostridium* spp.  
 KbE: Koloniebildende Einheiten

**Tabelle 47:** Ergebnisse der Untersuchungen auf verdächtige ESBL-bildende Mikroorganismen (Mac+) und deren Identifizierung

Melone Nr.	Mikroorganismus	Wachstum auf ESBL-Agar	Bestätigung MIC-Strip Test	Score Value MALDI-TOF MS
8	<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-	2.428
9	<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-	2.456
29	<i>Achromobacter xylosoxydans</i>	-	-	2.330
49	<i>Escherichia hermannii</i>	-	-	2.323
50	<i>Escherichia hermannii</i>	-	-	2.342
51	<i>Escherichia hermannii</i>	-	-	2.345
52	<i>Escherichia hermannii</i>	-	-	2.342
54	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.432
57	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	2.317
57	<i>Enterobacter absuriae</i>	-	-	2.072
58	<i>Enterobacter ludwigii</i>	-	-	2.344
59	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	2.304
61	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	2.364
65	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.308
66	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	2.386
67	<i>Citrobacter freundii</i>	+	-	2.387
68	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	2.392
70	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	2.506
71	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	2.391
79	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	2.491
79	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	2.355
80	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	-	2.341
83	<i>Enterobacter absuriae</i>	-	-	2.393
83	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	2.330
84	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	2.393
86	<i>Roultella ornithinolytica</i>	-	-	2.485
89	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.463
89	<i>Citrobacter farmeri</i>	-	-	2.403

+ Wachstum/ESBL-Bildner // - Kein Wachstum/nicht ESBL-Bildner

**Fortsetzung Tabelle 47:** Ergebnisse der Untersuchungen auf verdächtige ESBL-bildende Mikroorganismen (Mac+) und deren Identifizierung

Melone Nr.	Mikroorganismus	Wachstum auf ESBL-Agar	Bestätigung MIC-Strip Test	Score Value MALDI-TOF MS
91	<i>Roultella planticola</i>	-	-	2.618
92	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.352
93	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	2.564
94	<i>Escherichia coli</i>	-	-	2.429
95	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.387
97	<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	-	2.448
98	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	-	2.309
98	<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	2.562
101	<i>Roultella ornithinolytica</i>	-	-	2.304
101	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	-	2.331
101	<i>Enterobacter kobei</i>	-	-	2.401
101	<i>Kluyvera ascorbata</i>	-	-	2.242
102	<i>Serratia rubidaea</i>	-	-	2.273
102	<i>Kluyvera ascorbata</i>	-	-	2.200
109	<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	2.532
103	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.463
104	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.505
105	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	2.476
106	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.542
107	<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	2.580
110	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	2.373
115	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	2.409
115	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	2.381
116	<i>Roultella ornithinolytica</i>	-	-	2.401
117	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	2.406
117	<i>Roultella ornithinolytica</i>	-	-	2.457
119	<i>Roultella ornithinolytica</i>	-	-	2.374
122	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	2.473

+ Wachstum/ESBL-Bildner // - Kein Wachstum/nicht ESBL-Bildner

**Fortsetzung Tabelle 47:** Ergebnisse der Untersuchungen auf verdächtige ESBL-bildende Mikroorganismen (Mac+) und deren Identifizierung

Melone Nr.	Mikroorganismus	Wachstum auf ESBL-Agar	Bestätigung MIC-Strip Test	Score Value MALDI-TOF MS
126	<i>Enterobacter absuriae</i>	+	-	2.286
127	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	2.385
11Ga	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.402
12Ga	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	2.451
14Ga	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.469
15Ga	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.428
16Ga	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	2.441
17Ga	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.330
17Ga	<i>Escherichia vulneris</i>	-	-	2.064
17Ga	<i>Enterobacter</i> sp.	-	-	2.377
18Ga	<i>Serratia marcescens</i>	-	-	2.269
18Ga	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.455
19Ga	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.323
19Ga	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.323
20Ga	<i>Citrobacter braakii</i>	-	-	2.354
20Ga	<i>Enterobacter absuriae</i>	-	-	2.180
20Ga	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2.429

+ Wachstum/ESBL-Bildner // - Keine Wachstum/nicht ESBL-Bildner // Ga: Galia

**Tabelle 48:** Untersuchte Melonen mit Wachstum sulfitreduzierender mesophiler Clostridien aus dem Fruchtfleisch

Melone Nr.	Reifegrad	Herkunftsland	Belastung [KbE/g]	<i>Clostridium perfringens</i>
23	1	Brasilien	1,00E+01	-
37	2	Honduras	2,00E+01	-
39	3	Honduras	5,00E+00	-
41	2	Honduras	3,00E+01	-
42	2	Honduras	4,00E+01	-
43	2	Honduras	1,00E+01	-
44	3	Honduras	1,50E+01	-
73	1	Marokko	1,24E+03	-
74	1	Marokko	1,99E+03	-
77	1	Spanien	1,50E+01	-
78	1	Spanien	3,00E+01	-
79	2	Marokko	1,50E+01	-
80	3	Marokko	3,00E+01	-
81	2	Italien	3,50E+01	-
82	3	Italien	1,00E+01	-
83	2	Italien	1,00E+01	-
84	3	Italien	1,00E+01	-
86	1	Spanien	5,00E+00	-
87	1	Spanien	2,50E+01	-
89	2	Italien	1,00E+01	-
90	2	Italien	4,00E+01	-
92	1	Italien	5,00E+00	-
93	2	Italien	1,00E+01	-
94	1	Italien	5,00E+00	-
95	2	Italien	4,00E+01	-
96	2	Italien	5,00E+00	-
98	1	Italien	2,00E+01	-
99	2	Italien	2,00E+01	-

+ Bestätigung von *Clostridium perfringens* // - Andere Mikroorganismen der Gattung *Clostridium* spp.  
 KbE: Koloniebildende Einheiten

**Fortsetzung Tabelle 48:** *Untersuchte Melonen mit Wachstum sulfitreduzierender mesophiler Clostridien aus dem Fruchtfleisch*

Melone Nr.	Reifegrad	Herkunftsland	Belastung (KbE/g)	<i>Clostridium perfringens</i>
100	2	Italien	4,00E+01	-
101	1	Spanien	1,00E+01	-
102	1	Spanien	1,50E+01	-
103	3	Spanien	3,00E+01	-
104	1	Spanien	3,00E+01	-
105	2	Spanien	5,00E+00	-
106	3	Spanien	1,50E+01	-
107	2	Spanien	1,50E+01	-
108	2	Italien	1,50E+01	-
109	2	Italien	5,00E+01	-
110	3	Italien	2,50E+01	-
111	1	Italien	5,00E+00	-
112	1	Spanien	1,50E+01	-
113	1	Spanien	1,00E+01	-
114	1	Spanien	5,00E+00	-
115	2	Spanien	1,00E+01	-
116	3	Spanien	5,00E+00	-
117	2	Spanien	5,00E+00	-
118	3	Spanien	1,00E+01	-
119	2	Spanien	5,00E+00	-
120	3	Spanien	1,25E+02	-
121	1	Spanien	1,55E+02	-
122	1	Spanien	1,30E+02	-
123	2	Spanien	1,45E+02	-
124	2	Spanien	4,00E+01	-
125	1	Spanien	2,50E+01	-
126	2	Spanien	5,00E+01	-
127	2	Spanien	2,50E+01	-

+ Bestätigung von *Clostridium perfringens* // - Andere Mikroorganismen der Gattung *Clostridium* spp.  
 KbE: Koloniebildende Einheiten



**Fortsetzung Tabelle 48:** *Untersuchte Melonen mit Wachstum sulfitreduzierender mesophiler Clostridien aus dem Fruchtfleisch*

Melone Nr.	Reifegrad	Herkunftsland	Belastung (KbE/g)	<i>Clostridium perfringens</i>
14Ga	2	Spanien	2,00E+01	-
15Ga	2	Spanien	5,00E+00	-
16Ga	1	Spanien	4,00E+01	-
17Ga	2	Italien	6,00E+01	-
18Ga	2	Italien	5,00E+01	-
19Ga	1	Italien	2,50E+01	-
20Ga	1	Italien	3,00E+01	-

+ Bestätigung von *Clostridium perfringens* // - Andere Mikroorganismen der Gattung *Clostridium* spp.  
KbE: Koloniebildende Einheiten

**Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
1	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.033
1	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	MALDI-TOF MS	2.281
1	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.054
1	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negativ, durchsichtig, glatt, klein	Kulturelle Bestätigung*	-
1	NI: Grampositive Kokken, Katalase-positiv, hellgelb, glatt, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
1	NI: Grampositive Kokken, Katalase-positiv, rötlich-orange, glänzend, rund, glatt	Kulturelle Bestätigung	-
2	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.150
2	<i>Kocuria carniphila</i>	MALDI-TOF MS	2.060
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	MALDI-TOF MS	2.393
2	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.155
3	<i>Enterobacter kobei</i>	MALDI-TOF MS	2.332
3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.224
3	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.091
3	NI: Grampositive Kokken, Katalase-positiv, gelb, glänzend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
3	NI: Grampositive Kokken, Katalase-positiv, graugelb, glatt, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
3	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, hellgelb, glatt, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
3	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.175
3	<i>Kocuria carniphila</i>	MALDI-TOF MS	2.086
4	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	MALDI-TOF MS	2.097
1 - 4	<i>Serratia marcescens</i>	MALDI-TOF MS	2.266
1 - 4	<i>Bacillus cereus</i>	MALDI-TOF MS	2.121
5	<i>Citrobacter farmeri</i>	MALDI-TOF MS	2.401
5	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	MALDI-TOF MS	2.347
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	MALDI-TOF MS	2.114

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49: Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen**

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
5	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.308
5	<i>Microbacterium</i> sp.	Sequenzierung	-
5	<i>Mycelium sterile</i>	Kulturelle Bestätigung	-
6	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.121
6	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negative, grau, glatt, schleimig, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
6	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, gelb, glänzend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
6	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
6	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, hellgelb, glatt, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
6	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.215
6	<i>Kocuria carniphila</i>	MALDI-TOF MS	2.043
7	<i>Pantoea dispersa</i>	MALDI-TOF MS	2.199
7	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.155
7	NI: Grampositive Kokken, Katalase-positiv, gelb-orange, schleimig, glatt, heller Kern	Kulturelle Bestätigung	-
7	<i>Arthrobacter casterlilii</i>	MALDI-TOF MS	2.243
7	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	MALDI-TOF MS	2.475
7	<i>Microbacterium arborescens</i>	MALDI-TOF MS	2.088
7	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	MALDI-TOF MS	2.044
7	<i>Enterobacter kobei</i>	MALDI-TOF MS	2.199
7	<i>Enterobacter absuriae</i>	MALDI-TOF MS	2.287
8	<i>Citrobacter farmeri</i>	MALDI-TOF MS	2.388
8	<i>Staphylococcus aureus</i>	MALDI-TOF MS	2.477
8	<i>Microbacterium</i> sp.	MALDI-TOF MS	2.015
8	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.070
8	<i>Pseudomonas straminea</i>	MALDI-TOF MS	2.101

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49: Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen**

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
8	<i>Brevibacterium casei</i>	MALDI-TOF MS	2.410
8	<i>Rhodococcus</i> sp.	Sequenzierung	-
8	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	MALDI-TOF MS	2.351
8	<i>Arthrobacter casterllii</i>	MALDI-TOF MS	2.243
8	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negative, graugelb, rau	Kulturelle Bestätigung	-
8	NI: Grampositive Kokken, Katalase-positiv, rötlich, schleimig, winzig	Kulturelle Bestätigung	-
8	<i>Penicillium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
9	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, schleimig, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
9	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.245
10	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.337
11	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.073
11	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.145
11	<i>Psychrobacter</i> sp.	Sequenzierung	-
11	<i>Bacillus pumilus</i>	MALDI-TOF MS	2.020
12	NI: Grampositive Kokken, Katalase-positiv, weiß, winzig, glatt	Kulturelle Bestätigung	-
12	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.175
13	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negative, grau, schleimig, rau, groß	Kulturelle Bestätigung	-
14	<i>Staphylococcus aureus</i>	MALDI-TOF MS	2.473
14	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, groß, schleimig, tropfenähnlich, glänzend, Bacillismässig	Kulturelle Bestätigung	-
14	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.428
15	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, groß, schleimig, tropfenähnlich, glänzend, Bacillismässig	Kulturelle Bestätigung	-

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49: Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen**

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
15	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
16	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negative, groß, matt, grauweiß-milchig	Kulturelle Bestätigung	-
17	<i>Bacillus liqueniformis</i>	Sequenzierung	-
19	<i>Streptococcus cristatus</i>	MALDI-TOF MS	2.083
21	<i>Staphylococcus aureus</i>	MALDI-TOF MS	2.383
22	<i>Leuconostoc citreum</i>	MALDI-TOF MS	2.373
22	NI: Grampositive Kokken, Katalase-positiv, grau, glänzend, rund, glatt, winzig	Kulturelle Bestätigung	-
23	<i>Clostridium sordellii</i>	API	-
23	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.118
23	<i>Leuconostoc citreum</i>	MALDI-TOF MS	2.362
23	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
24	<i>Bacillus subtilis</i>	MALDI-TOF MS	2.057
24	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
24	NI: Grampositive Kokken, Katalase-positiv, weiß, glatt, winzig	Kulturelle Bestätigung	-
24	<i>Geotrichum candidum</i>	Kulturelle Bestätigung	-
24	Mesophile Hefe Nicht weiter subkultivierbar	Kulturelle Bestätigung	-
25	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.118
25	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.057
25	<i>Actinomyces oris</i>	MALDI-TOF MS	2.254
26	<i>Enterococcus faecalis</i>	MALDI-TOF MS	2.336
26	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
26	<i>Enterobacteriaceae</i>	Kulturelle Bestätigung	-
27	<i>Enterococcus faecalis</i>	MALDI-TOF MS	2.458
27	<i>Staphylococcus aureus</i>	MALDI-TOF MS	2.456
28	<i>Pantoea</i> sp.	Sequenzierung	-
29	Nicht weiter subkultivierbar	-	-
30	<i>Staphylococcus hominis</i>	MALDI-TOF MS	2.336
30	Nicht weiter subkultivierbar	-	-
31	<i>Bacillus pumilus</i>	MALDI-TOF MS	2.074
31	<i>Bacillus cereus</i>	MALDI-TOF MS	2.458
31	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.124
32	NI: Grampositive Kokken, Katalase-negativ, grau, klein, glänzend, glatt	Kulturelle Bestätigung	-
32	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, gelbgrau, klein, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
32	<i>Serratia liquefaciens</i>	MALDI-TOF MS	2.215
33	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.332
33	<i>Enterococcus faecium</i>	MALDI-TOF MS	2.360
33	<i>Pantoea</i> sp.	MALDI-TOF MS	2.317
34	<i>Enterococcus faecium</i>	MALDI-TOF MS	2.499
35	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.298
37	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	MALDI-TOF MS	2.074
37	<i>Clostridium sordellii</i>	MALDI-TOF MS	2.406
38	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.109
38	<i>Pseudomonas monteillii</i>	MALDI-TOF MS	2.183
38	<i>Microbacterium</i> sp.	Sequenzierung	-
38	<i>Bacillus</i> sp.	Sequenzierung	-
39	<i>Pseudomonas koreensis</i>	MALDI-TOF MS	2.114
39	<i>Clostridium sordellii</i>	MALDI-TOF MS	2.122

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
40	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	MALDI-TOF MS	2.460
40	<i>Arthrobacter</i> sp.	Sequenzierung	-
40	<i>Arthrobacter</i> sp.	Sequenzierung	-
40	<i>Microbacterium</i> sp.	Sequenzierung	-
40	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, weiß-grau, schleimig, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
41	<i>Clostridium sordellii</i>	MALDI-TOF MS	2.352
41	<i>Actinomyces oris</i>	MALDI-TOF MS	2.313
41	<i>Streptococcus salivarius</i>	MALDI-TOF MS	2.078
41	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.205
41	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negative, grau, glänzend, glatt	Kulturelle Bestätigung	-
42	<i>Rothia aeria</i>	MALDI-TOF MS	2.436
42	<i>Clostridium sordellii</i>	MALDI-TOF MS	2.308
42	<i>Staphylococcus hominis</i>	MALDI-TOF MS	2.461
42	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	MALDI-TOF MS	2.071
42	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.094
43	<i>Streptococcus sanguinis</i>	MALDI-TOF MS	2.086
43	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.327
43	<i>Staphylococcus warneri</i>	MALDI-TOF MS	2.285
43	<i>Clostridium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
43	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.132
44	<i>Clostridium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
44	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.312
44	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.196
45	<i>Pseudomonas</i> sp.	Sequenzierung	-
46	Nicht weiter subkultivierbar	-	-

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
48	<i>Serratia marcescens</i>	MALDI-TOF MS	2.372
48	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.266
49	<i>Streptococcus sanguinis</i>	MALDI-TOF MS	2.018
50	<i>Staphylococcus hominis</i>	MALDI-TOF MS	2.347
50	<i>Pseudomonas koreensis</i>	MALDI-TOF MS	2.425
50	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	MALDI-TOF MS	2.201
50	<i>Pseudomonas fulva</i>	MALDI-TOF MS	2.259
50	<i>Pseudomonas graminis</i>	MALDI-TOF MS	2.061
51	<i>Streptococcus oralis</i>	MALDI-TOF MS	2.153
51	<i>Pseudomonas koreensis</i>	MALDI-TOF MS	2.447
51	<i>Pseudomonas fulva</i>	MALDI-TOF MS	2.364
52	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	MALDI-TOF MS	2.111
52	<i>Pseudomonas fulva</i>	MALDI-TOF MS	2.400
52	<i>Pseudomonas graminis</i>	MALDI-TOF MS	2.071
52	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negative, grau, mittelgroß, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
54	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.339
57	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.375
58	<i>Bacillus cereus</i>	Kulturelle Bestätigung	-
59	<i>Microbacterium arborescens</i>	Sequenzierung	-
59	<i>Staphylococcus warneri</i>	MALDI-TOF MS	2.342
60	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	MALDI-TOF MS	2.245
60	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.300
60	<i>Escherichia coli</i>	Kulturelle Bestätigung +MALDI-TOF MS	2.015
60	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MALDI-TOF MS	2.447
60	<i>Bacillus cereus</i>	Kulturelle Bestätigung	-
61	<i>Pseudomonas monteillii</i>	MALDI-TOF MS	2.400

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert



**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
61	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.143
61	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.103
62	<i>Pseudomonas monteillii</i>	MALDI-TOF MS	2.433
62	<i>Pantoea dispersa</i>	MALDI-TOF MS	2.322
65	<i>Enterobacteriaceae</i>	Kulturelle Bestätigung +Sequenzierung	-
68	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	MALDI-TOF MS	2.295
69	<i>Arthrobacter arilaitensis</i>	MALDI-TOF MS	2.269
69	<i>Microbacterium arborescens</i>	MALDI-TOF MS	2.100
69	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negativ, durchsichtig, glatt, klein	Kulturelle Bestätigung	-
70	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.331
70	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.089
71	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, gelb, mittelgroß, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
71	<i>Gemella haemolysans</i>	MALDI-TOF MS	2.208
71	<i>Microbacterium arborescens</i>	MALDI-TOF MS	2.143
71	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.111
71	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negativ, grau-gelb, rau	Kulturelle Bestätigung	-
72	<i>Erwinia persicina</i>	MALDI-TOF MS	2.113
72	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negativ, grau, glatt, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
73	<i>Kocuria palustris</i>	MALDI-TOF MS	2.173
73	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.435
73	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.232
73	<i>Erwinia persicina</i>	MALDI-TOF MS	2.079
74	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.301
74	<i>Pseudomonas monteillii</i>	MALDI-TOF MS	2.095

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
74	Nicht weiter subkultivierbar	-	-
74	Mesophile Hefe Nicht weiter subkultivierbar	Kulturelle Bestätigung	-
76	<i>Staphylococcus capitis</i>	MALDI-TOF MS	2.346
76	<i>Rothia dentocariosa</i>	MALDI-TOF MS	2.367
76	<i>Neisseria mucosa</i>	MALDI-TOF MS	2.328
77	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.368
77	Nicht weiter subkultivierbar	-	-
77	<i>Streptococcus oralis</i>	MALDI-TOF MS	2.247
77	<i>Staphylococcus succinus</i>	MALDI-TOF MS	2.128
78	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.249
78	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.305
79	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.324
79	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.214
80	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.268
81	<i>Streptococcus cristatus</i>	MALDI-TOF MS	2.059
81	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	MALDI-TOF MS	2.313
81	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.384
81	<i>Serratia liquefaciens</i>	MALDI-TOF MS	2.015
81	<i>Microbacterium arborescens</i>	MALDI-TOF MS	2.229
81	NI: Gramnegative Kokken, Oxidase-negativ, grau, klein, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
82	<i>Rothia dentocariosa</i>	MALDI-TOF MS	2.328
82	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.428
82	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	MALDI-TOF MS	2.336
82	<i>Microbacterium arborescens</i>	MALDI-TOF MS	2.016
82	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negativ, durchsichtig, glatt, klein	Kulturelle Bestätigung	-

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
83	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, grau, klein, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
83	<i>Clostridium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
83	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.148
83	<i>Microbacterium arborescens</i>	MALDI-TOF MS	2.202
84	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.268
84	<i>Microbacterium arborescens</i>	MALDI-TOF MS	2.113
84	<i>Pseudomonas monteillii</i>	MALDI-TOF MS	2.183
84	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.009
85	<i>Rhodotorula</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
85	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	MALDI-TOF MS	2.073
86	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.291
86	<i>Bacillus liqueniformis</i>	Sequenzierung	-
86	<i>Clostridium tertium</i>	rapid ID 32 A	-
86	<i>Rhodotorula</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
86	Nicht weiter subkultivierbar	-	-
87	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.412
87	<i>Staphylococcus hominis</i>	MALDI-TOF MS	2.323
87	<i>Bacillus</i> sp.	Sequenzierung	-
87	<i>Arthrobacter oxydans</i>	MALDI-TOF MS	2.388
88	<i>Serratia liquefaciens</i>	MALDI-TOF MS	2.463
88	<i>Staphylococcus hominis</i>	MALDI-TOF MS	2.312
88	<i>Pseudomonas abietanophila</i>	MALDI-TOF MS	2.073
88	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negative, grau, durchsichtig, klein, glatt	Kulturelle Bestätigung	-
88	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.266
89	<i>Bacillus</i> sp.	Sequenzierung	-
89	Nicht weiter subkultivierbar	-	-

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
89	<i>Clostridium sordellii</i>	MALDI-TOF MS	2.350
89	Nicht weiter subkultivierbar	-	-
90	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.269
90	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.286
90	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, grau, mittelgroß, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
90	Nicht weiter subkultivierbar	-	-
90	<i>Streptococcus oralis</i>	MALDI-TOF MS	2.238
91	<i>Serratia liquefaciens</i>	MALDI-TOF MS	2.392
91	<i>Staphylococcus hominis</i>	MALDI-TOF MS	2.503
91	<i>Pseudomonas antarctica</i>	MALDI-TOF MS	2.071
91	<i>Streptococcus infantis</i>	MALDI-TOF MS	2.011
91	<i>Serratia ficaria</i>	Enteropluri™	-
91	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.095
92	<i>Enterobacter cloacae</i>	MALDI-TOF MS	2.630
92	<i>Clostridium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
92	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.135
92	<i>Curtobacterium</i> sp.	MALDI-TOF MS	2.251
92	Nicht weiter subkultivierbar	-	-
92	<i>Agrococcus</i> sp.	Sequenzierung	-
93	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.046
93	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.211
93	<i>Bacillus cereus</i>	Kulturelle Bestätigung	-
93	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.280
93	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, grau, mittelgroß, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
94	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.537
94	<i>Escherichia coli</i>	MALDI-TOF MS	2.429

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
94	<i>Bacillus</i> sp.	Sequenzierung	-
94	<i>Clostridium sordellii</i>	MALDI-TOF MS	2.259
94	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.277
94	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.178
94	<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	MALDI-TOF MS	2.276
95	<i>Enterobacter cloacae</i>	MALDI-TOF MS	2.372
95	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.347
95	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.029
95	<i>Microbacterium arborescens</i>	MALDI-TOF MS	2.121
96	<i>Erwinia persicina</i>	Sequenzierung	-
96	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.519
96	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, grau, glatt, mittelgroß, rund	Kulturelle Bestätigung	-
96	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negativ, grau, glatt, schleimig	Kulturelle Bestätigung	-
96	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, gelb, glatt, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
96	NI: Grampositive Kokken, Katalase-positiv, graugelb, schleimig, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
96	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.225
96	Nicht weiter subkultivierbar	-	-
98	<i>Enterobacter cloacae</i>	MALDI-TOF MS	2.407
98	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.218
98	<i>Serratia marcescens</i>	MALDI-TOF MS	2.431
98	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	MALDI-TOF MS	2.259
98	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv	Kulturelle Bestätigung	-
98	<i>Pseudomonas koreensis</i>	MALDI-TOF MS	2.042
99	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.088

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
99	<i>Enterobacter cloacae</i>	MALDI-TOF MS	2.397
99	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.244
99	<i>Microbacterium</i> sp.	Sequenzierung	-
99	<i>Bacillus</i> sp.	Sequenzierung	-
99	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	MALDI-TOF MS	2.090
100	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.320
101	<i>Staphylococcus warneri</i>	MALDI-TOF MS	2.160
101	<i>Staphylococcus hominis</i>	MALDI-TOF MS	2.271
101	<i>Clostridium sordellii</i>	MALDI-TOF MS	2.106
102	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.201
102	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.242
103	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.298
103	<i>Staphylococcus succinus</i>	MALDI-TOF MS	2.268
103	<i>Serratia liquefaciens</i>	MALDI-TOF MS	2.345
103	<i>Bacillus cereus</i>	Kulturelle Bestätigung	-
103	<i>Staphylococcus xylosus</i>	MALDI-TOF MS	2.209
104	<i>Clostridium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
105	<i>Clostridium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
105	<i>Staphylococcus succinus</i>	MALDI-TOF MS	2.204
105	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.102
105	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.020
105	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
105	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, grau-weiß, glatt, schleimig, klein	Kulturelle Bestätigung	-
106	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.369
106	<i>Staphylococcus</i> sp.	Sequenzierung	-

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
106	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.212
106	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-negativ	Kulturelle Bestätigung	-
107	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, grau, glatt, mittelgroß, rund	Kulturelle Bestätigung	-
107	<i>Bacillus cereus</i>	Kulturelle Bestätigung	-
107	<i>Enterobacter cloacae</i>	MALDI-TOF MS	2.550
107	<i>Staphylococcus xylosus</i>	MALDI-TOF MS	2.442
107	<i>Microbacterium</i> sp.	MALDI-TOF MS	2.479
107	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negativ, grau, glatt, schleimig	Kulturelle Bestätigung	-
107	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.340
107	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.263
107	<i>Staphylococcus succinus</i>	MALDI-TOF MS	2.150
107	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.243
107	<i>Serratia liquefaciens</i>	MALDI-TOF MS	2.409
107	<i>Microbacterium arborescens</i>	MALDI-TOF MS	2.002
108	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.285
109	<i>Clostridium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
109	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.287
110	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.327
111	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	MALDI-TOF MS	2.234
111	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.185
111	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
112	<i>Sphingobacterium mizutaii</i>	MALDI-TOF MS	2.457
112	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.260
112	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.266

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
113	<i>Clostridium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
113	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
114	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.363
114	<i>Streptococcus salivarius</i>	MALDI-TOF MS	2.106
114	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
115	<i>Clostridium</i> sp.	Sequenzierung	-
115	<i>Microbacterium phyllosphaerae</i>	MALDI-TOF MS	2.068
115	<i>Staphylococcus succinus</i>	MALDI-TOF MS	2.087
115	NI: Grampositive Kokken, Katalase-negativ, grau, winzig, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
115	<i>Fusarium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
116	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.309
116	<i>Clostridium</i> sp.	Sequenzierung	-
116	<i>Staphylococcus succinus</i>	MALDI-TOF MS	2.169
117	<i>Clostridium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
118	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.223
119	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.327
119	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	MALDI-TOF MS	2.264
119	<i>Streptococcus sanguinis</i>	MALDI-TOF MS	2.340
119	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.218
120	<i>Bacillus</i> sp.	Sequenzierung	-
120	<i>Clostridium sordellii</i>	MALDI-TOF MS	2.023
120	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
121	<i>Micrococcus</i> sp.	Sequenzierung	-

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert



**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
121	<i>Clostridium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
121	<i>Staphylococcus hominis</i>	MALDI-TOF MS	2.249
122	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.141
122	<i>Staphylococcus succinus</i>	MALDI-TOF MS	2.106
122	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
123	<i>Staphylococcus hominis</i>	MALDI-TOF MS	2.350
123	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.359
123	<i>Clostridium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
124	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.230
124	<i>Rothia dentocariosa</i>	MALDI-TOF MS	2.236
125	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.414
125	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.402
125	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negativ, grau-gelb, glänzend, groß	Kulturelle Bestätigung	-
125	<i>Rhizobakterium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
126	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.303
126	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.135
126	NI: Grampositive Kokken, Katalase-negativ, grau, glatt, winzig	Kulturelle Bestätigung	-
127	<i>Clostridium sordellii</i>	MALDI-TOF MS	2.010
127	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.350
127	<i>Staphylococcus hominis</i>	MALDI-TOF MS	2.452
127	<i>Bacillus</i> sp.	Sequenzierung	-
1Ga	<i>Micrococcus luteus</i>	MALDI-TOF MS	2.139
3Ga	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.049
3Ga	<i>Bacillus simplex</i>	MALDI-TOF MS	2.040
4Ga	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.180

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
5Ga	<i>Staphylococcus capitis</i>	MALDI-TOF MS	2.351
5Ga	Nicht weiter subkultivierbar	-	-
7Ga	<i>Staphylococcus hominis</i>	MALDI-TOF MS	2.262
8Ga	<i>Bacillus subtilis</i>	MALDI-TOF MS	2.099
9Ga	<i>Staphylococcus warneri</i>	MALDI-TOF MS	2.023
10Ga	<i>Staphylococcus</i> sp.	Sequenzierung	-
10Ga	<i>Psychrobacillus psychrodurans</i>	MALDI-TOF MS	2.056
10Ga	<i>Salmonella</i> Infantis	Sequenzierung+Serotypie	-
11Ga	<i>Salmonella</i> Choleraesuis Variante Kunzendorf (H <sub>2</sub> S+)	Sequenzierung+Serotypie	-
11Ga	<i>Leuconostoc</i> sp.	MALDI-TOF MS	2.018
11Ga	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negativ, grau, glatt, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
12Ga	<i>Pseudomonas flavescens</i>	MALDI-TOF MS	2.045
13Ga	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MALDI-TOF MS	2.074
13Ga	NI: Gramnegative Stäbchen, Oxidase-negativ, grau, mittelgroß, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
14Ga	<i>Enterobacter cloacae</i>	MALDI-TOF MS	2.515
14Ga	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.305
14Ga	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.147
14Ga	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
15Ga	<i>Clostridium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
15Ga	<i>Pantoea agglomerans</i>	MALDI-TOF MS	2.444
16Ga	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.271
16Ga	<i>Streptococcus oralis</i>	MALDI-TOF MS	2.134
17Ga	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.165
17Ga	<i>Streptococcus oralis</i>	MALDI-TOF MS	2.151
17Ga	<i>Neisseria perflava</i>	MALDI-TOF MS	2.326

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert

**Fortsetzung Tabelle 49:** Isolierte Mikroorganismen aus dem Fruchtfleisch mit Angaben zu den Identifikationsmethoden sowie morphologischen und biochemischen Beschreibungen der nicht identifizierten Mikroorganismen

Melone Nr.	Mikroorganismus	Bestätigungsmethode	Score Value MALDI-TOF MS
17Ga	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.036
17Ga	NI: Grampositive Kokken, Katalase-positiv, hellgelb, mittelgroß, glatt	Kulturelle Bestätigung	-
17Ga	<i>Fusarium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
18Ga	<i>Enterobacter cloacae</i>	MALDI-TOF MS	2.464
18Ga	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.292
18Ga	<i>Serratia marcescens</i>	MALDI-TOF MS	2.355
18Ga	<i>Pantoea ananatis</i>	MALDI-TOF MS	2.399
18Ga	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	MALDI-TOF MS	2.038
18Ga	<i>Pseudomonas thevervalensis</i>	MALDI-TOF MS	2.051
18Ga	<i>Fusarium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
19Ga	<i>Staphylococcus hominis</i>	MALDI-TOF MS	2.377
19Ga	<i>Pentobacterium carotovorum</i>	MALDI-TOF MS	2.223
19Ga	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.306
19Ga	<i>Staphylococcus sciuri</i>	MALDI-TOF MS	2.073
19Ga	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, groß, rau, schleimig, glänzend	Kulturelle Bestätigung	-
19Ga	<i>Fusarium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
20Ga	<i>Clostridium subterminale</i>	MALDI-TOF MS	2.208
20Ga	<i>Staphylococcus aureus</i>	MALDI-TOF MS	2.342
20Ga	NI: Grampositive Stäbchen, Katalase-positiv, graugelb, hämolysierend, mittelgroß	Kulturelle Bestätigung	-
20Ga	<i>Fusarium</i> sp.	Kulturelle Bestätigung	-
20Ga	<i>Bacillus liqueniformis</i>	MALDI-TOF MS	2.126

Kulturelle Bestätigung: s. Kapitel 3 // NI: Nicht Identifiziert // Ga: Galia

## 12 Danksagung

Eine wissenschaftliche Arbeit ist nie das Werk einer einzelnen Person, deshalb ist es jetzt an der Zeit, mich bei allen Menschen zu bedanken, die mir die Erstellung meiner Dissertation ermöglicht haben.

Insbesondere bedanke ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Manfred Gareis für die freundliche Aufnahme als Erasmus-Studentin, für seine Betreuung als Doktorandin und für seine unschätzbare Unterstützung bei meinen ersten Schritten als Wissenschaftlerin. Ganz herzlich danke ich Frau Dr. Nathalie Drees für ihre intensive Betreuung, die langen konstruktiven Gespräche und für ihre geduldige Unterstützung und Verständnis. Weiterhin möchte ich Herr Dr. C. Gottschalk für seine Mitbetreuung der Arbeit und seine immer freundliche Hilfe danken. Bei Herrn Dipl.-LM-Ing. Peter Stauch, LSG Sky Chefs München GmbH, bedanke ich mich ganz besonders für die Bereitstellung der Proben und sein andauerndes Interesse für das Projekt. Herr F. Stoewer, Hausladen Fruchthandelsgesellschaft mbH, danke ich für seine ständige Bereitschaft für die Abgabe der Proben. Vielen Dank auch an Dr. Sven Reese für die Hilfe bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse. Danke auch an Prof. Dr. rer. nat. habil. M. A. Ehrmann, Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie, TUM, für die Bereitstellung des MALDI-TOF für meine ersten Messungen.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Frau Dr. R. Bonke für ihre Hilfsbereitschaft in allen Fällen und ihre aufmunternden Ratschläge bedanken. Frau Dr. B. Sperner danke ich ihre fachliche Beratung. Allen danke ich auch für das unermüdliche Korrekturlesen.

Vielen Dank auch an alle Mitarbeiter des Lehrstuhls für Lebensmittelsicherheit, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben. Ein ganz besonderes Dankeschön gilt Frau H. Dietz, Frau E. Altgenug und Frau S. Holzmann für die unermüdliche Hilfe, die das hohe Arbeitstempo ermöglicht hat. Weiterhin danke ich Frau M. Hermanns und Frau V. Hohenester für ihre kompetente Einarbeitung und ihre fortwährende fachliche und menschliche Unterstützung. Bei S. Ulrich bedanke ich mich für seine Einarbeitung in die MALDI-TOF Technik. Für die Identifizierung der Schimmelpilze bedanke ich mich bei Frau Dr. B. Biermaier und Frau H. Vu Le. Frau V. Schnittke danke ich für die Hilfe bei der Beschaffung einiger Literaturquellen, die ich sonst nicht gelesen hätte. Ganz herzlichen Dank an meine Freundinnen und Kollegen M. Schmidt und S. Vetter für ihre geleistete Hilfe und Unterstützung, sowie für die schönen miteinander verbrachten Stunden.

Mein größter Dank gilt meiner Familie und Pablo. Ohne ihre Unterstützung und ihren Glauben an meine Fähigkeiten wäre das Anfertigen der Dissertation nicht möglich gewesen. Danke an meine Schwester für ihre liebevolle Seelsorge. Mit Liebe bedanke ich mich bei Pablo, der mir immer zur Seite stand und immer die passenden Worte und Taten hatte.

Anschließend möchte ich ein spezielles Dankeschön an Deutschland und an die Ludwig-Maximilians-Universität München richten, die einer spanischen Studentin sowohl einen Erasmus-Austausch, als auch die Anfertigung einer Dissertation ermöglicht haben.